

**PROFIL EKSPRESI OVIDUCTIN SERTA
PERHITUNGAN JUMLAH FOLIKEL
OVARIUM FASE LUTEAL DAN
FOLIKULER PADA KAMBING
PERANAKAN ETTAWAH
(*Capra aegagus*)**

SKRIPSI

Oleh :
INDAH SETIO WARDANI
145130100111008



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**PROFIL EKSPRESI OVIDUCTIN SERTA
PERHITUNGAN JUMLAH FOLIKEL
OVARIUM FASE LUTEAL DAN
FOLIKULER PADA KAMBING
PERANAKAN ETTAWAH
(*Capra aegagus*)**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh:

INDAH SETIO WARDANI

145130100111008



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

PROFIL EKSPRESI OVIDUCTIN SERTA PERHITUNGAN JUMLAH FOLIKEL OVARIUM FASE LUTEAL DAN FOLIKULER PADA KAMBING PERANAKAN ETTAWAH (*Capra aegagus*)

Oleh:

INDAH SETIO WARDANI

145130100111008

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 31 Juli 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

drh. Viski Fitri Hendrawan, M.Vet
NIP. 19880518 201504 1 003

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Indah Setio Wardani
NIM : 145130100111008
Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan
Penulis Skripsi berjudul:

**Profil Ekspresi Oviductin serta Perhitungan Jumlah Folikel Ovarium
Fase Luteal dan Folikuler pada Kambing Peranakan Ettawah (*Capra
aegagus*)**

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar – benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 19 Juli 2018
Yang menyatakan,

(Indah Setio Wardani)
NIM. 145130100111008

Profil Ekspresi Oviductin serta Perhitungan Jumlah Folikel Primer dan Sekunder Ovarium Fase Luteal dan Folikuler pada Kambing Peranakan Ettawah (*Capra aegagus*)

ABSTRAK

Oviductin merupakan salah satu jenis protein yang disekresikan pada saluran reproduksi kambing peranakan Ettawah dengan berat molekul spesifik antara 55 – 65 kDa. Protein ini, secara umum, memiliki peranan untuk membantu keberhasilan fertilisasi dengan mencegah terjadinya polispermia melalui mekanisme *vitelline block* serta membantu proses perkembangan awal embrio. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ekspresi oviductin pada ovarium kambing fase luteal dan folikuler serta mengetahui perbedaan jumlah folikel di ovarium. Sampel ovarium yang digunakan berasal dari limbah Rumah Potong Hewan. Analisa ekspresi oviductin dilakukan menggunakan metode imunohistokimia dan perhitungan jumlah folikel ovarium dilakukan menggunakan preparat dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE). Ekspresi oviductin pada preparat dengan metode imunohistokimia kemudian dianalisa secara kuantitatif menggunakan *immunoratio* dan dilanjutkan dengan uji *t independent*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai rata-rata ekspresi oviductin pada fase folikuler ovarium adalah sebesar 89% dan pada fase luteal adalah sebesar 12%. Sementara itu rata-rata jumlah folikel ovarium pada fase folikuler lebih banyak dibandingkan fase luteal. Disimpulkan bahwa jumlah folikel ovarium berhubungan dengan peranan oviductin dalam folikulogenesis.

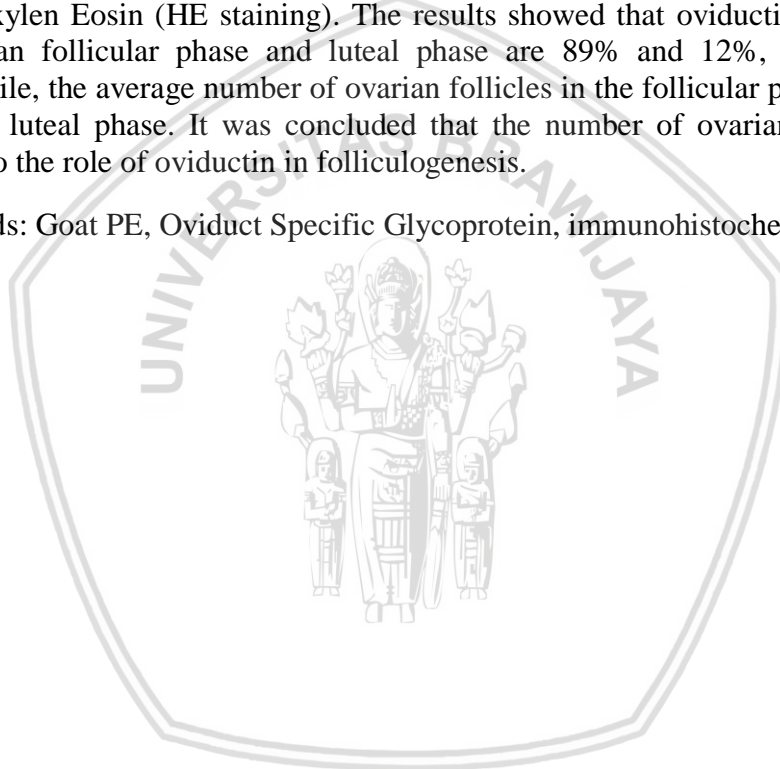
Kata kunci : Kambing PE, *Oviduct Specific Glycoprotein*, imunohistokimia, pewarnaan HE

The Expression of Ovarian Oviductin and Follicle Number of Luteal and Follicular Phases on Peranakan Ettawah Goats (*Capra aegagus*)

ABSTRACT

Oviductin is kind of protein secreted in the goat reproductive tract, include peranakan ettawah goat, with specific molecular weight of 55 – 65 kDa. This protein is, in general, have a role to help the success of fertilization by preventing the occurrence of polispermia through the mechanism of the vitelline block and help the process of the development of the early embryo. Research purpose was determine the expression of oviductin in the luteal and follicular phase of goat and differences the number of follicles in the ovaries. Ovarian samples were obtained from slaughterhouse wastes. Oviductin expression were analyzed by immunohistochemistry technique and the number of ovarian follicle evaluated by Hematoxylen Eosin (HE staining). The results showed that oviductin expression in ovarian follicular phase and luteal phase are 89% and 12%, respectively. Meanwhile, the average number of ovarian follicles in the follicular phase is more than the luteal phase. It was concluded that the number of ovarian follicles is related to the role of oviductin in folliculogenesis.

Keywords: Goat PE, Oviduct Specific Glycoprotein, immunohistochemistry



KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT, karena atas berkenaan-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Profil Ekspresi Oviductin serta Perhitungan Jumlah Folikel Ovarium Fase Luteal dan Folikuler pada Kambing Peranakan Ettawah (*Capra aegagus*)**” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan di Universitas Brawijaya. Penelitian ini merupakan bagian dari payung penelitian yang diketuai oleh Dr. Dra. Herawati, MP dan didanai oleh BOPTN.

Dengan penuh rasa hormat dan ketulusan hati, penulis mengucapkan terimakasih kepada segenap pihak yang secara langsung maupun tidak langsung telah membantu dalam penyusunan skripsi ini. Ucapan terima kasih terutama kepada :

1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES dan drh. Viski Fitri Hendrawan, M.Vet., sebagai dosen pembimbing atas bimbingan, nasihat, saran dan segala perhatian yang telah diberikan selama penyusunan skripsi ini.
2. Drh. Aulia Firmawati, M.Vet. dan drh. Drh. Yudit Oktanella, M.Si. sebagai dosen penguji yang telah memberikan masukan dan saran selama pelaksanaan ujian skripsi.
3. Dr. Dra. Herawati, MP sebagai dosen payung penelitian bagi penulis yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk turut serta dalam penelitian.
4. Keluarga penulis, Ayah Setia Margono, Ibunda Idayani, atas segala pengorbanan, doa, materi dan kasih sayang yang tak terhingga kepada penulis.
5. Seluruh dosen yang telah membimbing dan memberikan ilmu selama menjalankan studi di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
6. Teman kelompok penelitian, Nadia Adreyantasary, Cheptien Winda Virgiantari, Tri Saputra, dan Febry Sysdityawan atas bantuan, dukungan, serta semangat yang telah diberikan.
7. Hanun Sabilah, Dessy Setyoningsih serta teman – teman FKHUB 2014A yang telah bersedia menjadi keluarga terbaik.

Penulis berharap skripsi ini dapat memberikan informasi dan manfaat khususnya bagi penulis sendiri serta bagi rekan – rekan mahasiswa yang lain. Penulis menyadari bahwa proposal skripsi ini jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis memohon maaf atas kekurangan tersebut serta mengharapkan adanya kritik serta saran yang membangun untuk hasil yang lebih baik.

Malang, 12 Januari 2018

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
LEMBAR PERNYATAAN	iv
ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Batasan Masalah.....	4
1.4 Tujuan Penelitian.....	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Kambing	6
2.2 Ovarium Kambing.....	8
2.3 <i>Oviduct Specific Glycoprotein</i> (oviductin).....	17
2.4 Imunohistokimia.....	20
2.4 Pewarnaan <i>Hematoxylin Eosin</i>	21
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	22
3.1 Kerangka Konsep	22
3.2 Hipotesis Penelitian.....	25
BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN.....	26
4.1 Waktu dan Tempat Penelitian	26
4.2 Alat dan Bahan	26

4.3	Tahapan Penelitian	27
4.4	Prosedur Kerja	28
4.5	Analisa Data	30
BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN		31
5.1	Ekspresi Oviductin pada Ovarium Fase Folikuler dan Luteal.....	33
5.2	Perhitungan Jumlah Folikel Ovarium Fase Folikuler dan Luteal.....	43
BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN		49
6.1	Kesimpulan.....	49
6.2	Saran	49
DAFTAR PUSTAKA		50
LAMPIRAN.....		54



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
Gambar 2.1 Kambing Peranakan Ettawah	8
Gambar 2.2 Folikel Ovarium	12
Gambar 2.3 Struktur Folikel <i>Degraaf</i>	13
Gambar 2.4 Fase Folikuler Ovarium Secara Makroskopis & Mikroskopis	15
Gambar 2.4 Fase Luteal Ovarium Secara Makroskopis dan Mikroskopis	17
Gambar 2.4 Ikatan Antigen - Antibodi	20
Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konseptual	22
Gambar 5.1 Sampel Ovarium	32
Gambar 5.2 Ekspresi Oviductin pada Folikel <i>Degraaf</i> Ovarium Kanan	35
Gambar 5.3 Ekspresi Oviductin pada Folikel <i>Degraaf</i> Ovarium Kiri	36
Gambar 5.4 Ekspresi Oviductin pada Korpus Luteum Ovarium Kanan	37
Gambar 5.5 Ekspresi Oviductin pada Korpus Luteum Ovarium Kiri.....	38
Gambar 5.6 Folikel pada Ovarium.....	45

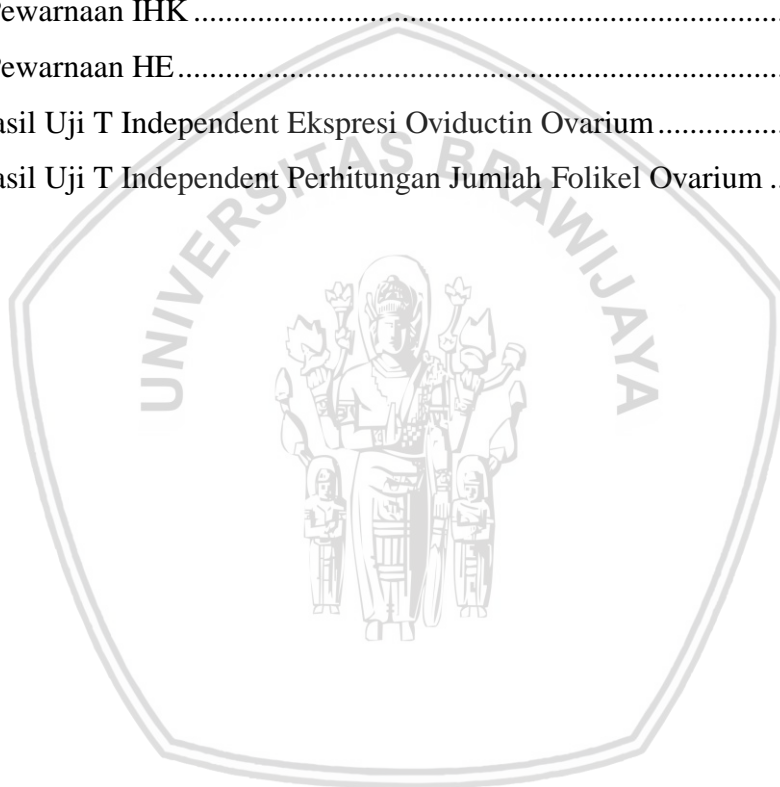
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
Tabel 5.1 Tabel Hasil Ekspresi Oviductin Ovarium Fase Folikuler	40
Tabel 5.2 Tabel Hasil Ekspresi Oviductin Ovarium Fase Folikuler	41
Tabel 5.3 Perhitungan Jumlah Folikel Ovarium Fase Folikuler	46
Tabel 5.4 Perhitungan Jumlah Folikel Ovarium Fase Luteal.....	46



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Rancangan Penelitian	55
Kerangka Operasional	56
Skema Pembuatan Preparat	57
Skema Pewarnaan IHK	58
Skema Pewarnaan HE	59
Tabel Hasil Uji T Independent Ekspresi Oviductin Ovarium	60
Tabel Hasil Uji T Independent Perhitungan Jumlah Folikel Ovarium	61



DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

<u>Simbol/singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
-	Sampai
%	Persen
β	Beta
\geq	Lebih dari
$^{\circ}\text{C}$	Derajat Celcius
g	Gram
FITC	<i>Flourescein Isothiocynate</i>
FSH	<i>Follicle Stimulating Hormone</i>
HE	<i>Hematoxylene Eosin</i>
kDa	Kilo Dalton
LH	<i>Luteinizing Hormone</i>
mm	Milimeter
NaCl	Natrium Clorida
OVGP	<i>Oviduct Specific Glycoprotein</i>
RPH	Rumah Potong Hewan
ZP	Zona pelucida

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kambing merupakan jenis hewan yang mudah ditanakkan dan beradaptasi di seluruh pelosok negeri. Pemeliharaan kambing dapat mendatangkan banyak manfaat seperti untuk diambil bulu, susu, serta dagingnya. Daging kambing mengandung banyak manfaat untuk memenuhi kebutuhan gizi masyarakat. Peningkatan pemeliharaan serta pembudidayaan kambing merupakan salah satu solusi untuk mencapai swasembada daging di Indonesia agar pemerataan status gizi masyarakat dapat tercapai.

Salah satu cara mencapai swasembada daging adalah dengan meneliti faktor – faktor yang dapat meningkatkan keberhasilan fertilisasi. Faktor tersebut dapat berupa kondisi hormonal, metode inseminasi buatan, maupun protein – protein penting yang terlibat dalam reproduksi kambing. Selain itu pemahaman mengenai siklus reproduksi kambing juga turut berperan dalam meningkatkan keberhasilan reproduksi.

Secara umum, siklus reproduksi kambing terdiri atas fase folikuler dan fase luteal. Fase folikuler merupakan salah satu fase krusial sebelum ovulasi yang memegang kendali atas terbentuknya folikel *Degraaf* serta ovum. Pada fase ini pula protein penting yang membantu meningkatkan keberhasilan rasio fertilisasi disekresikan dalam jumlah besar. Sementara itu fase luteal merupakan sebuah fase pasca ovulasi yang menginisiasi sekresi hormon FSH yang berperan penting dalam proses folikulogenesis. Adanya pengetahuan yang

memadai mengenai ekspresi dan peranan faktor – faktor yang terlibat dalam proses tersebut dapat dijadikan suatu terobosan untuk meningkatkan angka keberhasilan fertilisasi pada kambing.

Oviduct Specific Glycoprotein (oviductin) merupakan salah satu protein yang disekresikan pada saluran reproduksi kambing dan terdapat dalam cairan oviduk. Sintesis dan sekresi oviductin bersifat dinamis dan berhubungan dengan estrogen (Buhi dan Killian dalam Rizos *et al.*, 2016) dan stimulasi hormon luteinizing (Sun *et al.*, dalam Rizos *et al.*, 2016). Kultur embrio yang disertai dengan keberadaan oviductin terbukti menunjukkan adanya peningkatan pembelahan sel dan laju pembentukan blastosit secara *in vivo* pada babi (McCauley *et al.*, dalam Rizos *et al.*, 2016) dan domba (Pradeep *et al.*, dalam Rizos *et al.*, 2016). Interaksi antara oviductin dan sperma meningkatkan rasio fertilisasi dan perkembangan embrio (Killian dalam Rizos *et al.*, 2016). Selain itu, oviductin diduga kuat menstabilkan lingkungan mikro disekitar gamet dan embrio seperti mencegah hilangnya nutrisi dan ion penting, terutama selama terjadi kontraksi otot dan peningkatan viskositas cairan luminal (Hunter dan Mondejar *et al.*, dalam Rizos *et al.*, 2016). Coy *et al.*, dalam Rizos *et al.*, (2016) menunjukkan bahwa oviductin dan heparin-like glikosaminoglikan dari cairan oviductal babi dan sapi turut berperan dalam mempengaruhi interaksi spermatosit dan ovum dalam saluran reproduksi betina serta berkontribusi terhadap modifikasi fungsional zona pelusida (ZP).

Ekspresi oviductin sangat bergantung pada keberadaan hormon estrogen. Hormon estrogen merupakan salah satu hormon yang memiliki peran penting

dalam proses folikulogenesis. Saat estrogen disekresikan dalam jumlah besar pada fase folikuler kambing, maka jumlah oviductin yang diekspresikan akan ikut meningkat. Adanya peningkatan ekspresi oviductin tersebut diduga turut berperan membantu estrogen dalam proses folikulogenesis untuk perkembangan folikel primordial pada cortex ovarium hingga terbentuk folikel *Degraaf* sehingga penting untuk dilakukan perhitungan jumlah folikel ovarium pada fase folikuler dan luteal. Menurut Pratiwi *et al.*, (2017) keberadaan oviductin berhubungan dengan zona pelusida dan terlokalisir pada ruang perivitelin.

Siklus reproduksi kambing serta ekspresi protein *Oviduct Specific Glycoprotein* (oviductin) memiliki kontribusi penting dalam proses fertilisasi serta perkembangan embrio. Pengetahuan yang lebih memadai mengenai peranan serta ekspresi oviductin pada folikel ovarium fase folikuler dan luteal diharapkan dapat membantu meningkatkan angka fertilisasi pada ternak kambing. Penelitian terhadap ekspresi oviductin dapat dilakukan menggunakan metode imunohistokimia sedangkan perhitungan terhadap jumlah folikel ovarium dilakukan menggunakan preparat dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE). Dengan demikian hasil penelitian diharapkan dapat meningkatkan pemahaman mengenai peranan ekspresi oviductin pada siklus reproduksi kambing.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka rumusan masalah yang diajukan adalah sebagai berikut:

1. Apakah terdapat perbedaan ekspresi *Oviduct Specific Glycoprotein* (oviductin) pada fase folikuler dan luteal?
2. Apakah terdapat perbedaan jumlah folikel ovarium pada fase folikuler dan luteal?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dijelaskan, maka penelitian ini dibatasi pada:

1. Ovarium kambing diperoleh dari limbah Rumah Potong Hewan (RPH) dan sebelum dibawa ke laboratorium ovarium dimasukkan dalam plastik dengan penambahan NaCl fisiologis.
2. Ovarium kambing yang dikoleksi adalah sebanyak 8 set ovarium normal pada fase folikuler dan 8 set ovarium normal pada fase luteal.
3. Ovarium dibedakan berdasarkan fasenya. Kelompok ovarium fase folikuler ditentukan berdasarkan adanya folikel *Degraaf* dengan ukuran ± 5 mm, sedangkan ovarium fase luteal ditandai dengan adanya bentukan korpus luteum.

4. Ekspresi *Oviduct Specific Glycoprotein* (oviductin) pada bagian sel granulosa folikel *Degraaf* dan sel granulosa lutein korpus luteum diamati menggunakan metode Imunohistokimia.
5. Perhitungan jumlah folikel ovarium dilakukan menggunakan preparat dengan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE).

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui perbedaan ekspresi *Oviduct Specific Glycoprotein* (oviductin) pada ovarium kambing betina normal fase folikuler dan luteal.
2. Mengetahui perbedaan jumlah folikel ovarium kambing fase folikuler dan fase luteal.

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang dapat diperoleh dari penelitian yang dilakukan yaitu:

1. Hasil penelitian dapat digunakan sebagai kajian ilmiah mengenai ekspresi *Oviduct Specific Glycoprotein* (oviductin) pada ovarium kambing fase folikuler dan fase luteal secara imunohistokimia.
2. Penelitian dapat digunakan sebagai kajian ilmiah mengenai peranan *Oviduct Specific Glycoprotein* (oviductin) terhadap keberhasilan fertilisasi kambing.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kambing

Kambing merupakan jenis ternak ruminansia yang memiliki banyak manfaat bagi manusia. Selain daging, susu, kulit, bahkan feses pun dapat diolah oleh manusia. Feses kambing dapat digunakan sebagai pupuk organik dengan kualitas tinggi. Ternak kambing juga memiliki keunggulan berupa cara pemeliharaan yang relatif mudah dan sederhana dibandingkan dengan komoditas ternak lainnya (Muljana dalam Rusdi, 2013). Selain itu, kemampuan reproduksi kambing pun tergolong cepat dengan kemampuan adaptasi terhadap lingkungan yang tinggi. Hewan ini menyukai hampir semua jenis makanan seperti dedaunan, rumput, buah – buahan, serta limbah pertanian (Nurmiati, 2014).

Kambing termasuk hewan ternak yang pertama kali didomestikasi oleh manusia. Hal tersebut dibuktikan oleh adanya temuan gambar kambing pada benda arkeolog di Asia Barat seperti Jericho, Choga Mami Jeintun, dan Cayonum pada tahun 6000-7000 SM (Susilorini *et al.* dalam Rusdi, 2013). Kambing ternak di Asia dianggap sebagai keturunan dari *Capra aegagus*, sementara di Eropa, kambing ternak dianggap sebagai keturunan dari kambing liar *Capra aegagus aegagus*. Sementara itu kambing ternak yang berkembang di wilayah Timur Tengah hingga India diduga sebagai keturunan dari *Capra aegagus blythi*. Nenek moyang kambing ternak yang berada pada wilayah ini

memiliki ukuran tubuh yang lebih besar dibandingkan dengan *Capra aegagus aegagus* (Sarwono, 2005).

Ternak kambing di Indonesia dapat dibedakan menjadi dua jenis yaitu kambing potong dan kambing perah. Daging kambing potong mengandung banyak zat gizi seperti protein, lemak, kalsium, fosfor, zat besi, dan vitamin B1. Jenis kambing yang biasanya ditanakkan sebagai kambing potong diantaranya kambing Ettawah dan Boer (Sulaksono *et al.*, 2012).

Terdapat dua jenis kambing yang dominan di Indonesia, yaitu kambing Kacang (Gambar 2.1) dan kambing Ettawah. Kambing Kacang merupakan jenis kambing asli Indonesia dengan ciri khas bentuk badan kecil, tinggi pundak 50 – 60 cm, serta prolifk. Sedangkan kambing Ettawah memiliki ukuran badan yang lebih besar dari kambing Kacang dengan tinggi pundak 70 – 80 cm, telinga panjang dan menggantung, serta kurang prolifk (Sudewo *et al.*, 2012).

Klasifikasi ilmiah kambing menurut Mileski dan Myers (2004) adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Animalia
Filum	: Chordata
Kelas	: Mammalia
Ordo	: Artiodactyla
Famili	: Bovidae
Sub famili	: Caprinae
Genus	: <i>Capra</i>
Spesies	: <i>C. aegagus</i>



Gambar 2.1 Kambing Peranakan Ettawah (Sodiq dan Abidin, 2008)

Ternak kambing, secara teoritis, dapat menghasilkan 6 hingga 9 anakan dalam dua tahun. Tingkat reproduksi kambing tersebut diantaranya dipengaruhi oleh faktor kecukupan gizi. Produktivitas tersebut diantaranya dipengaruhi oleh faktor iklim, paritas, litter size, periode laktasi (Urdaneta *et al.*, 2000 ; Awemu *et al.*, 2002; Crepaldi *et al.*, 1999 dalam Sudewo *et al.*, 2012) disamping faktor non-genetik seperti pakan dan tatalaksana (Akingbade *et al.*, 2004 dalam Sudewo *et al.*, 2012).

2.2 Ovarium Kambing

2.2.1 Karakteristik Ovarium Kambing

Ovarium adalah organ reproduksi primer pada hewan betina. Ovarium, pada masa embriogenesis, berkembang di daerah vertebrae lumbalis bagian dorsal cavum peritoneum, dibelakang ginjal bagian kiri dan kanan. Organ ini ditahan oleh sebuah penggantung yang disebut mesovarium. Pada permukaan bagian luar, ovarium berhubungan langsung dengan saluran yang disebut sebagai tuba falopi (Arman, 2014). Terdapat dua bagian dari ovarium yaitu bagian medula yang mengandung banyak

vaskularisasi serta bagian korteks yang di dalamnya terdapat folikel ovarium yang mengandung oosit (Syamsuddin, 2014).

Ovarium memiliki ukuran yang beragam, bergantung pada sifat genetik setiap individu. Namun demikian, secara umum ovarium memiliki bentuk yang oval. Sejak masa prepuber, ovarium tidak pernah berhenti bekerja. Hal tersebut mengakibatkan folikel dalam ovarium mengalami perkembangan dan atresia sehingga ukuran ovarium mengalami perubahan seiring dengan terjadinya pertumbuhan. Ukuran ovarium cenderung stabil pada fase prepuber. Massa ovarium bertambah secara spontan setelah terjadinya pubertas. Peningkatan masa tersebut tidak lepas dari adanya peran hormonal (Kurjak, 1994).

2.2.2 Fungsi Ovarium Kambing

Ovarium merupakan organ reproduksi pada hewan betina dengan peran eksokrin dan endokrin. Fungsi eksokrin ovarium adalah sebagai penghasil sel telur (ovum) yang merupakan sel gamet pada hewan betina. Ovum dihasilkan dari pembelahan mitosis oogonia. Setidaknya terdapat satu juta oosit yang berkembang saat fetus dilahirkan. Namun demikian hanya beberapa ratus oosit saja yang diovulasikan. Jumlah oosit tersebut dapat berkurang karena mengalami degenerasi dan atresia (Syamsuddin, 2014).

Dalam peranannya sebagai organ endokrin, ovarium bertugas untuk menghasilkan hormon yang berperan penting bagi siklus reproduksi hewan betina. Hormon tersebut antara lain estrogen dan progesteron. Pusat penghasil estrogen pada ovarium adalah sel – sel folikel ovarium

yang sedang mengalami perkembangan. Hormon ini bertanggungjawab atas perubahan fisik dan tingkah laku hewan sebagai upaya mempersiapkan terjadinya perkawinan dan kebuntingan. Progesteron dihasilkan oleh korpus luteum yang merupakan perkembangan dari folikel de graaf setelah terjadinya ovulasi. Fungsi utamanya adalah dalam mempersiapkan uterus untuk implantasi serta menjaga kebuntingan setelah terjadinya implantasi (Arman, 2014).

2.2.3 Siklus Ovarium Kambing

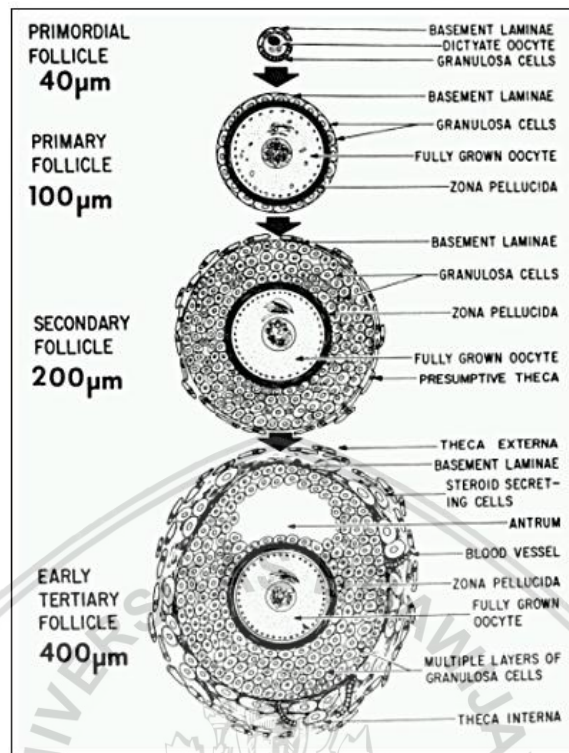
Ovum tidak dihasilkan secara terus menerus selama masa kehidupan hewan betina. Sesaat setelah hewan dilahirkan, ribuan oosit telah disemaikan dalam organ reproduksi hewan. Jumlah tersebut tidak dapat bertambah dan merupakan jumlah oosit maksimal yang dapat diproduksi hewan tersebut selama masa kehidupannya. Beberapa dari oosit tersebut dapat berkembang menjadi ovum yang diovulasikan melalui siklus ovarium sementara sebagian sisanya mengalami degenerasi (Arman, 2014).

Siklus yang terjadi di dalam ovarium diawali oleh folikulogenesis. Folikulogenesis merupakan tahapan perkembangan folikel ovarium ditinjau dari ukuran, jumlah lapisan sel granulosa, perkembangan yang terjadi pada sel teka interna dan eksterna, letak sel telur di sekitar kumulus oophorus, serta peningkatan volume cairan pada rongga folikel. Folikel tersebut mengalami berbagai tahapan perkembangan hingga

menjadi folikel yang matang dan siap mengovulasikan oosit (Syamsuddin, 2014).

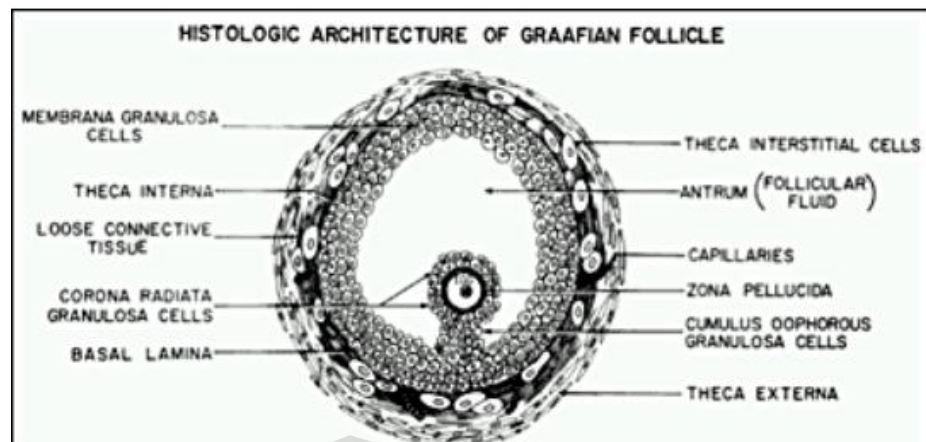
Folikulogenesis diawali dengan proses aktivasi folikel primordial dan dapat berakhir dengan terjadinya ovulasi maupun atresia. Folikel dapat diklasifikasikan menjadi tiga kelompok (Gambar 2.2) berdasarkan morfologinya yaitu folikel primer, folikel sekunder, dan folikel tersier atau folikel *Degraaf*. Terdapat dua fase folikulogenesis yaitu fase preantral (fase gonadotropin-independen) yang ditandai dengan pertumbuhan dan diferensiasi oosit serta fase antral (fase Graaf / gonadotropin-dependen) yang ditandai dengan ukuran folikel yang semakin meningkat. Fase preantral banyak mendapatkan pengaruh dari faktor pertumbuhan yang diproduksi secara lokal melalui mekanisme autokrin-parakrin. Sementara fase antral utamanya dipengaruhi oleh FSH (*Follicle Stimulin Hormone*) dan LH (*Luteinizing Hormone*) (Anwar, 2005).

Folikel primordial yang telah mengalami aktivasi akan berkembang menjadi folikel sekunder. Perbedaan antara folikel primer dan sekunder adalah terjadinya perkembangan volume oosit serta peningkatan jumlah sel – sel granulosa menjadi 6 – 12 lapis. Setelah melewati fase folikel sekunder, folikulogenesis dilanjutkan dengan pembentukan folikel tersier atau folikel *Degaaf* yang dilengkapi dengan antrum berisi cairan. Antrum tersebut juga dikelilingi oleh sel yang disebut sebagai membran granulosa (Syamsuddin, 2014).



Gambar 2.2 Folikel ovarium (William dan Erickson, 2012).

Oosit pada folikel *Degraaf* (Gambar 2.3) menempel pada kumulus ooforus dengan korona radiata yang mengelilinginya. Pada tahapan ini, terjadi peningkatan produksi estrogen yang berfungsi untuk mempersiapkan terjadinya perkawinan. Folikel ini pada akhirnya akan pecah dan mengeluarkan ovum yang terkandung di dalamnya (ovulasi) (Arman, 2014).



Gambar 2.3 Struktur folikel *Degraaf* (Anwar, 2005).

Ovulasi adalah peristiwa traumatik saat ovum dikeluarkan dari dalam folikel. Dinding pada bagian luar folikel akan mengalami pembengkakan sesaat sebelum terjadinya ovulasi. Kejadian ini akan diikuti oleh penonjolan stigma folikel dan mengalirnya cairan melalui stigma. Adanya aliran cairan tersebut menyebabkan ukuran folikel menyusut dan robekan semakin membesar. Evaginasi cairan dengan viskositas tinggi akan mengakhiri peristiwa ovulasi. Ovum akan ikut terbawa keluar bersama cairan serta tetap dikelilingi oleh sel kumulus (Anwar, 2005).

Proses ovulasi memerlukan LH untuk tahap pertumbuhan akhir folikel serta proses ovulasi. Tanpa adanya hormon ini, walaupun FSH tersedia dalam jumlah melimpah, folikel tidak akan mampu mengalami perkembangan hingga tahap ovulasi. LH juga mempengaruhi peranan sel granuloosa dan sel theca sehingga keduanya cenderung mensekresikan progesteron dan sedikit estrogen. Hal inilah yang menyebabkan kadar estrogen menurun sekitar satu hari sebelum terjadinya ovulasi (Anwar, 2005).

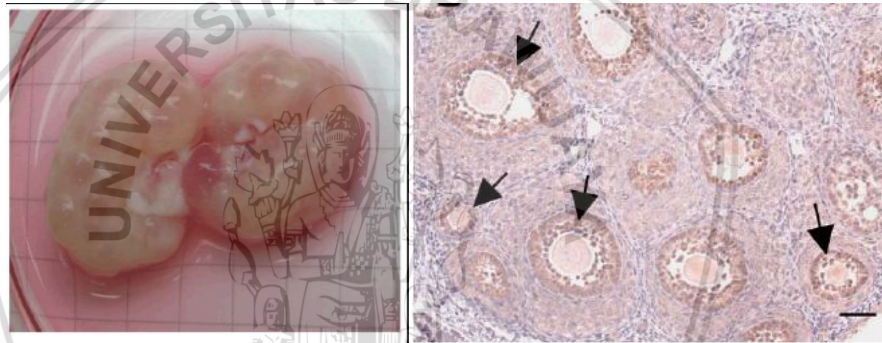
Folikel kosong pasca ovulasi selanjutnya akan terisi darah yang membeku dengan cepat sehingga terbentuk corpus hemoragikum. Adanya rangsangan dari LH mengakibatkan sel granulosa pada dinding folikel memperbanyak diri dan memadat membentuk corpus luteum. Korpus luteum ini berfungsi menghasilkan hormon progesteron yang diperlukan untuk menjaga kebuntingan. Jika terjadi fertilisasi, korpus luteum akan dipertahankan karena adanya sinyal endokrin dari ovum ke ovarium. Sebaliknya, korpus luteum akan terdegenerasi jika fertilisasi tidak terjadi (Arman, 2014).

2.2.4 Fase Folikuler Ovarium Kambing

Folikel ovarium terletak pada bagian cortex, di dalam tunika albugenia, dan berisi oosit yang dikelilingi oleh lapisan sel epitelium. Pada masa pubertas, ovarium berisi ratusan ribu oosit yang tersimpan dalam cortex stroma, tetapi hanya sedikit oosit yang dapat mencapai kematangan dan diovulasikan. Folikel ovarium (Gambar 2.4) pada fase folikulogenesis akan terus mengalami perkembangan, baik bentuk maupun ketebalan, bergantung pada tahapan pertumbuhan yang sedang dijalani. Pada masa inilah folikel mengalami perubahan dari folikel primer, sekunder, tersier, hingga kemudian folikel *Degraaf* terbentuk (Krause, 2005).

Selama fase folikuler, folikel primordial akan mengalami pertumbuhan dan perkembangan. Folikel ini terpilih pada fase luteal di siklus sebelumnya. Aktivitas aromatase yang berkembang selama fase antral

distimulasi oleh FSH. Folikel – folikel primordial yang jumlahnya tiga hingga lima buah membentuk kohort folikel dan akan mengalami perkembangan pada fase folikuler selanjutnya. FSH akan menstimulasi pertumbuhan sel granulosa folikel dan mengubah androgen pada sel granulosa menjadi estrogen. Dengan demikian konsentrasi estradiol 17β akan mengalami peningkatan. Fase folikuler ditandai dengan bentuk permukaan ovarium yang tidak rata dan banyak terdapat tonjolan (Leppert dan Peipert, 2004).



Gambar 2.4 Fase folikuler ovarium secara makroskopis (kiri)(N. *et al.*, 2016) dan mikroskopis (kanan) (Mescher, 2013).

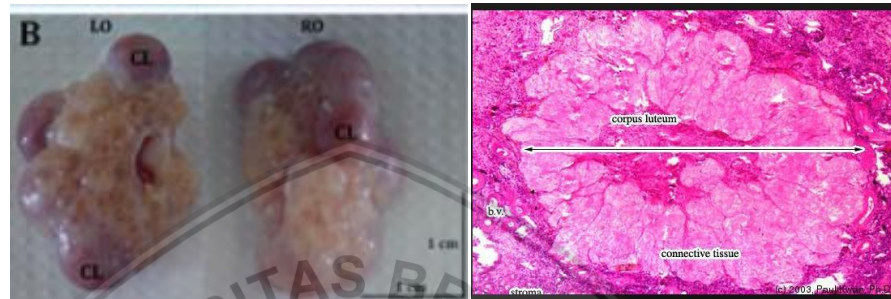
2.2.5 Fase Luteal Ovarium Kambing

Ovulasi merupakan peristiwa keluarnya oosit matang dari dalam folikel *DeGraaf*. Segera setelah ovulasi, rongga yang kosong pada folikel akan terisi oleh darah. Folikel berisi darah ini kemudian dikenal dengan nama *corpus haemorrhagicum* (Gomes, 2008). Corpus haemorrhagicum pada preparat dengan pewarnaan HE akan tampak lebih kemerahan karena adanya eritrosit (Hammam *et al.*, 2014).

Sisa sel granulosa yang tidak dilepaskan bersama oosit setelah terjadinya ovulasi akan terus membesar, terlihat memiliki vakuola, dan mulai mengumpulkan pigmen kuning yang disebut lutein. Sel granulosa yang terluteinisasi bergabung dengan sel theca-lutein yang baru terbentuk dan stroma di sekitar ovarium menjadi korpus luteum (Gambar 2.5). Korpus luteum adalah organ endokrin sementara yang secara dominan mengeluarkan progesteron dan fungsi utamanya adalah menyiapkan endometrium untuk implantasi sel telur yang telah dibuahi. Lamina basalis pada tahapan ini akan sedikit terurai dan kapiler menginvasi lapisan granulosa sel sebagai respon terhadap sekresi faktor angiogenik oleh sel granulosa dan sel theca (Reed dan Carr, 2015).

Karakteristik dari fase luteal adalah terjadinya perubahan pada folikel dominan. Setelah terjadi lonjakan FSH dan LH, aktivitas sekretori pada sel granulosa terhenti. Bagian lamina basalis akan terinvasi oleh kapiler dari theca interna sehingga terbentuk struktur baru yang disebut korpus luteum. Korpus luteum tersebut mensekresikan baik estradiol 17β maupun progesteron. Hormon progesteron akan mendominasi saat terbentuk korpus luteum. Selanjutnya akan terjadi perubahan pada saluran reproduksi sebagai upaya persiapan jika terjadi fertilisasi. Aktivitas sekretori akan meningkat pada glandula endometrium. Bagian mukosa servix akan menjadi tebal dan liat. Selain itu, progesterone juga akan mempengaruhi pusat pengaturan suhu tubuh di hipotalamus sehingga pada fase ini suhu tubuh akan mengalami peningkatan (Leppert dan

Peipert, 2004). Sementara itu jika tidak terjadi fertilisasi, sel granulosa lutein pada korpus luteum akan terdegradasi dan terjadi regresi. Sel tersebut selanjutnya akan digantikan oleh jaringan ikat fibrosa sehingga terbentuk *corpus albican* (Kuehnel, 2003).



Gambar 2.5 Gambaran korpus luteum secara makroskopis (kiri) (N. *et al.*, 2016) dan mikroskopis (kanan) (Mescher, 2013).

2.3 *Oviduct Specific Glycoprotein (Oviductin)*

2.3.1 Spesifikasi dan Produksi Oviductin

Oviduct Specific Glycoprotein (oviductin) merupakan suatu protein yang dapat ditemukan pada cairan yang disekresikan oleh oviduk. Protein ini berhubungan dengan zona pelusida dan terlokasir pada ruang perivitelin. Adanya oviductin pada ruang perivitelin dapat berkaitan dengan mekanisme vitelin block sehingga dapat mencegah terjadinya polispermia yang dapat menginduksi kematian embrio dini. Berat molekul oviductin pada kambing berkisar antara 55 – 65 kDa (Pratiwi *et al.*, 2017).

Dalam percobaan benchmark pada kelinci, Oliphant *et al.* (1984) mengidentifikasi protein yang bersifat estrogen-dependen dan disintesis oleh sel epitel nonsilia oviduk. Protein tersebut disekresikan ke lumen

oviduk, di mana ia terikat pada selubung ovum. Analisis sintesa dan sekresi dari protein oviduk pada babi menghasilkan identifikasi dan karakterisasi 10 protein. Produk sekretori utama, oviductin, glikoprotein yang bersifat estrogen dependen telah diidentifikasi dalam berbagai spesies termasuk tikus, hamster, kelinci, sapi, babi, kera rhesus, dan manusia. Pada babi, terdapat tiga isoform utama dari oviductin yaitu oviductin -E1, -E2, dan -E3. Walaupun penelitian menggunakan mikroskop elektron menunjukkan perbedaan regional dan temporal dalam ekspresi oviductin di oviduct babi, penelitian tersebut menunjukkan bahwa p-oviductin berikatan dengan zona pellucida, ruang perivitelline, dan membran plasma oosit yang diovulasikan. Interaksi ini menunjukkan bahwa p-oviductin berperan penting untuk mengatur fertilisasi serta perkembangan embrio dini (McCauley *et al.*, 2003).

Transportasi gamet, pematangan, kapasitasi sperma, fertilisasi, dan perkembangan embrio tahap awal terjadi pada lingkungan mikro oviduk yang diatur untuk mengoptimalkan terjadinya kebuntingan. Perbedaan temporal dan regional dalam aktivitas biosintesis oviduktal sangat penting untuk mendukung fertilisasi dan perkembangan embrio dini sebagian besar diatur oleh aktivitas steroid ovarium. Pada babi, pengaturan sintesis dan sekresi protein oviductal oleh estrogen bervariasi menurut segmen fungsional dari oviduk, dengan aktivitas yang jauh lebih besar pada infundibulum dan ampula, lokasi fertilisasi dan lokasi pembelahan pada

fase estrus dibandingkan dengan fase lainnya pada periode siklus estrus (McCauley *et al.*, 2003).

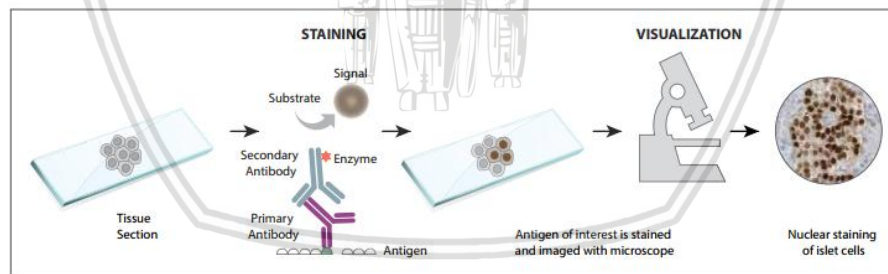
2.3.2 Fungsi Oviductin

Oviductin merupakan sekresi glikoprotein utama dan diekspresikan secara eksklusif oleh oviduk. Protein ini, di bawah kontrol estrogen selama fase estrus dan fase folikuler, diekspresikan secara meluas pada semua spesies yang diuji. Oviductin yang terikat pada matrix ekstraselular, zona pelusida, serta membran gamet dan embrio menunjukkan peran biologis potensial selama fertilisasi dan perkembangan embrio. Penelitian menunjukkan bahwa oviductin mempengaruhi kapasitas, motilitas dan viabilitas sperma. Selain itu, sintesis dan sekresi oviductin terbesar di kebanyakan spesies yang terjadi pada pertengahan hingga akhir fase folikuler mengindikasikan adanya peranan protein tersebut terhadap perkembangan folikel pada ovarium (Buhi, 2002).

Pretreatment oviductin terhadap ovarium sapi dan babi sebelum fertilisasi menunjukkan efek positif. Pada babi, tingkat penetrasi dan fertilisasi yang tinggi sangat penting dan kejadian polispermi berkurang secara signifikan pada oosit yang ditreatment dengan oviductin konsentrasi rendah (McCauley *et al.* dalam Buhi, 2002). Demikian pula, oosit sapi yang sebelumnya diinkubasi dengan oviductin menunjukkan peningkatan yang signifikan dalam tingkat fertilisasi (Martus *et al.* dalam Buhi, 2002). Hasil ini menunjukkan adanya efek oviductin terhadap oosit (Buhi, 2002).

2.4 Imunohistokimia

Imunohistokimia merupakan suatu metode untuk mendeteksi protein atau antigen lainnya pada jaringan dengan menggunakan antibodi. Prosedur ini akan menghasilkan data semi kuantitatif mengenai ekspresi, distribusi, dan lokasi dari protein target. Imunohistokimia diawali dengan proses histoteknik yaitu suatu prosedur pembuatan irisan jaringan yang selanjutnya diamati menggunakan mikroskop. Preparat tersebut selanjutnya di *probe* menggunakan antibodi primer yang berlawanan dengan antigen target. Ekspresi dapat diamati melalui respon dari antibodi primer yang telah diberi label atau umumnya melalui penambahan antibodi sekunder yang telah diberi label (Gambar 2.6). Label tersebut, baik fluorescent maupun enzimatis, digunakan untuk memvisualisasikan kompleks antigen-antibodi (Biotechnne, 2017).



Gambar 2.6 Ikatan antigen-antibodi (Biotechnne, 2017).

CCRC (2009) menyatakan bahwa terdapat dua jenis metode identifikasi antigen dalam prosedur imunohistokimia yaitu metode langsung dan metode tidak langsung. Metode langsung adalah metode pengecatan yang hanya menggunakan satu jenis antibodi yaitu antibodi yang telah diberi label. Contoh

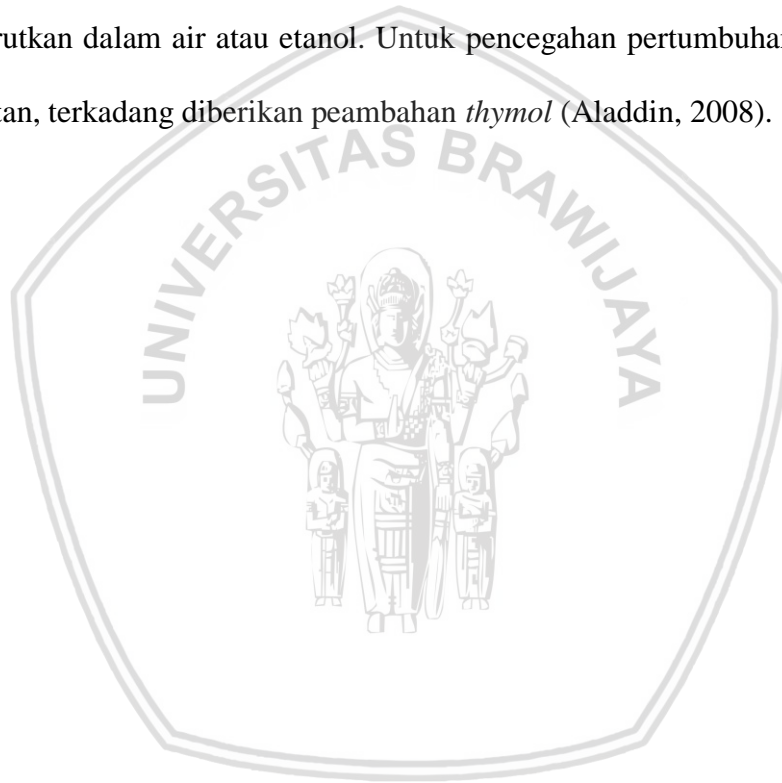
dari antibodi tersebut antara lain antiserum terkonjugasi *flourescein isothiocynate* (FITC) atau rodhamin. Terdapat dua jenis antibodi yang digunakan pada metode tidak langsung yaitu antibodi primer sebagai substrat yang mengenali antigen pada jaringan serta antibodi sekunder yang mengandung kromogen. Kromogen inilah yang pada akhirnya membentuk perubahan warna saat direaksikan dengan senyawa tertentu.

2.5 Pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE)

Pewarnaan H&E, atau pewarnaan *hematoxylin eosin*, adalah metode pewarnaan yang sering digunakan dalam histologi. Metode ini banyak digunakan dalam diagnosis medis misalnya untuk melihat biopsi kanker. Metode pewarnaan HE melibatkan aplikasi hemalum, yang merupakan kompleks yang terbentuk dari ion aluminium dan hematoxylin teroksidasi. Bagian ini akan mewarnai inti sel (dan beberapa benda lainnya, seperti butiran keratohyalin) dengan warna biru (Aladdin, 2008).

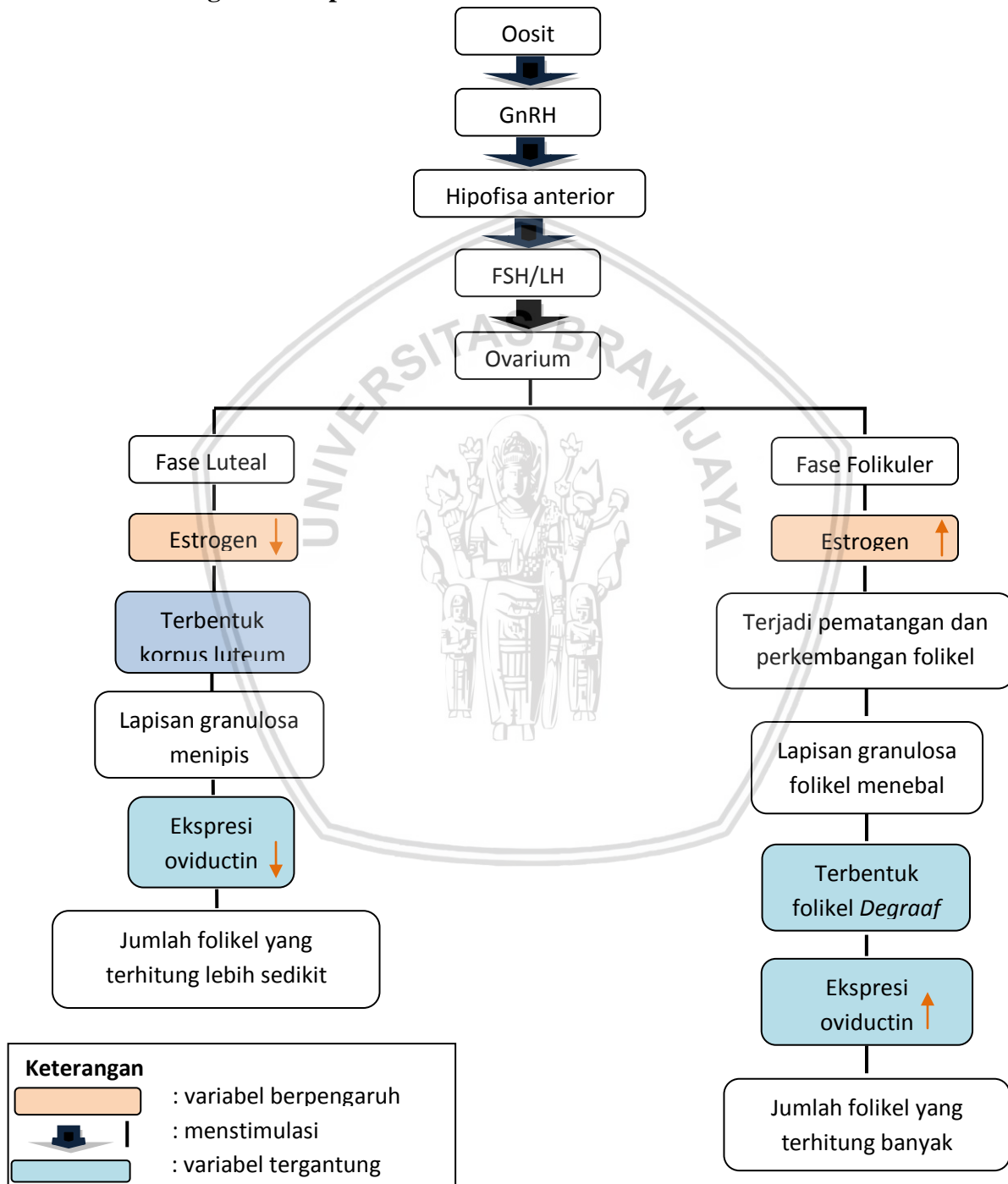
Tiga cairan utama *hematoxylin* yang digunakan adalah *haematoxylin Ehrlich*, *haematoxylin Harris* dan *haematoxylin Mayer*. Istilah haemalum lebih dipilih daripada "*haematoxylin*" untuk larutan ini karena haematein, produk oksidasi *haematoxylin*, adalah senyawa yang menggabungkan ion aluminium untuk membentuk kompleks zat warna aktif. Cairan *haematoxylin* alum memberikan warna merah transparan pada inti sel yang dengan cepat berubah biru pada paparan cairan netral atau alkali (Aladdin, 2008).

Eosin adalah pewarna merah neon yang dihasilkan dari reaksi bromida pada fluorescein. Pewarna ini bisa digunakan untuk mewarnai sitoplasma, kolagen dan serabut otot untuk pemeriksaan mikroskopis. Struktur yang mudah terwarnai dengan eosin disebut eosinofilik. *Eosin* adalah pewarna bersifat asam dan muncul di bagian dasar sel, yaitu sitoplasma. Untuk pewarnaan, eosin Y biasanya digunakan dalam konsentrasi 1 sampai 5% berat menurut volume, dilarutkan dalam air atau etanol. Untuk pencegahan pertumbuhan jamur dalam larutan, terkadang diberikan penambahan *thymol* (Aladdin, 2008).



BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka konsep penelitian

Ovarium merupakan organ genital penting pada betina yang memiliki fungsi baik eksokrin maupun endokrin. Dalam peranannya sebagai organ endokrin, ovarium menghasilkan beberapa hormon penting seperti estrogen yang berperan dalam folikulogenesis sehingga oosit dapat berkembang menjadi ovum yang siap diovulasikan.

Dalam prosesnya, perkembangan oosit menjadi ovum harus melalui tahapan folikulogenesis. Tahapan tersebut dipengaruhi oleh kerja hormon GnRH pada hipofisa anterior yang merangsang disekresikannya FSH. Hormon FSH berfungsi untuk merangsang perkembangan folikel primordial, penebalan lapisan granulosa, hingga terbentuk folikel *Degraaf*. Dalam melaksanakan tugasnya, kerja hormon FSH dibantu oleh estrogen. Sehingga dengan demikian pada fase ini, estrogen akan diproduksi dalam jumlah besar hingga folikel *Degraaf* terbentuk. Tingginya jumlah hormon estrogen yang diproduksi memicu terjadinya lonjakan LH sehingga terjadi ovulasi.

Pasca ovulasi, folikel yang telah pecah akan mensekresikan estrogen dan progesteron untuk mempersiapkan terjadinya kebuntingan. Namun demikian jumlah estrogen yang disekresikan jauh lebih sedikit dibandingkan dengan fase pre-ovulasi. Jika tidak terjadi fertilisasi, jumlah hormon estrogen dan progesteron yang disekresikan akan berangsur turun sehingga terbentuk korpus luteum dan lapisan granulosa yang telah terbentuk menipis. Korpus luteum tersebut selanjutnya akan merangsang sekresi hormon FSH sehingga folikulogenesis kembali dimulai.

Oviductin merupakan suatu protein yang bersifat estrogen–dependen sehingga kadarnya tergantung pada konsentrasi estrogen pada tubuh. Oviductin tersebut memiliki peran penting baik dalam keberhasilan fertilisasi maupun untuk perkembangan folikel ovarium. Sementara itu, jumlah estrogen tertinggi dicapai saat ovarium mengalami fase folikuler, dimana estrogen berperan dalam proses stimulasi perkembangan folikel sehingga terbentuk folikel *Degraaf*. Dengan demikian ekspresi oviductin pada fase folikuler diduga lebih tinggi dibandingkan dengan fase luteal karena sel epitel ovarium pada fase ini memproduksi estrogen dalam jumlah besar.

Estrogen yang disekresikan dalam jumlah besar memicu terjadinya lonjakan ekspresi oviductin. Adanya lonjakan ekspresi protein yang tinggi mengakibatkan terjadinya aktivasi reseptor protein pada bagian theca folikel sehingga lapisan granulosa menebal. Adanya penebalan lapisan granulosa memicu aktivasi protein lain yang bertugas untuk mengatur pematangan inti oosit sehingga dengan demikian folikel – folikel pada ovarium ikut mengalami perkembangan pada fase ini.

Visualisasi ekspresi *Oviduct Specific Glycoprotein* dilakukan menggunakan metode imunohistokimia. Imunohistokimia merupakan suatu prosedur yang digunakan untuk mendeteksi adanya suatu protein spesifik maupun antigen dalam jaringan melalui ikatan kompleks antigen antibodi. Sementara itu perhitungan jumlah folikel dilakukan menggunakan preparat dengan pewarnaan HE.

3.2 Hipotesis

Berdasarkan kerangka konsep yang telah dibuat, maka hipotesis penelitian yang diajukan adalah sebagai berikut:

1. Terdapat perbedaan ekspresi oviductin pada ovarium kambing betina fase luteal dan folikuler.
2. Terdapat perbedaan jumlah folikel ovarium kambing betina pada fase folikuler dan luteal.



BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2017. Ovarium yang digunakan didapatkan dari limbah Rumah Potong Hewan; proses imunohistokimia dilakukan di Laboratorium Histologi Universitas Brawijaya; dan proses pengamatan serta perhitungan jumlah folikel *Degraaf* serta korpus luteum dilakukan di Laboratorium Animal Disease Diagnostic Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.

4.2 Alat dan Bahan

4.2.1 Alat

Pot organ, botol, wadah, pinset, blok kayu, mikrotum, kuas, gelas objek, *hot plate*, inkubator, *coverglass*, dan mikroskop, talenan, pisau scalpel, saringan, tissue casset, mesin processor otomatis, mesin vaccum, mesin bloking, freezer (-20 °C), mesin microtome, pisau microtome, water bath 46 °C, kaca obyek, kaca penutup, rak khusus untuk pewarnaan, oven 60°C.

4.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain ovarium kambing, NaCl fisiologis, xylene, etanol 100%, alkohol 95%, alkohol 90%, alkohol 80%, alkohol 70%, *peroxidase blocking solution*, antibodi

anti oviductin (*rabbit polyclonal anti ovidcutin*), antibodi sekunder, kromogen *Diaminobenzinidine* (DAB), *Hematoxylin Eosin*, *mounting media*, tisu, parafin, dan vaselin.

4.3 Tahapan Penelitian

4.3.1 Rancangan Penelitian

Perhitungan jumlah ovarium yang digunakan pada prosedur imunohistokimia dalam penelitian dilakukan dengan menggunakan rumus $[t(n-1) \geq 15]$ (Kusriningum, 2008). Perhitungan yang dimaksud adalah sebagai berikut:

$$(t - 1) (n - 1) > 15$$

$$(2 - 1) (n - 1) \geq 15$$

$$n - 1 \geq 15$$

$$n \geq 16$$

Keterangan :

t : jumlah kelompok pada perlakuan

n : jumlah ulangan yang diperlukan

Dengan demikian dapat diketahui bahwa jumlah ulangan yang diperlukan untuk prosedur imunohistokimia adalah 16 ulangan fase folikuler dan 16 ulangan fase luteal.

4.3.2 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati pada penelitian adalah sebagai berikut:

Variabel bebas : antibodi anti oviductin terhadap OVGP

Variabel tergantung : ekspresi OVGP pada ovarium dan jumlah folikel *Degraaf* serta korpus luteum pada ovarium

Variabel kendali : kualitas ovarium kambing.

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Koleksi Ovarium Kambing

Ovarium kambing yang digunakan pada penelitian diperoleh dari Rumah Potong Hewan Sukun Malang. Ovarium tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam *ice box* yang berisi larutan NaCl fisiologis bercampur streptomycin sulfat 0,006 g dan penicillin 0,01 g, serta *ice gel* untuk menjaga lingkungan tetap dingin. Sampel selanjutnya dibawa ke laboratorium untuk diseleksi.

4.4.2 Imunohistokimia Ovarium Kambing

Ovarium kambing yang diperoleh dipotong sebesar empat mikrometer untuk selanjutnya ditempelkan pada gelas objek berlapis *poly-L-lysine*. Sampel selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C dalam inkubator selama satu malam. Deparafinisasi menggunakan *xylene* dilakukan sebanyak tiga kali dengan rentang waktu masing – masing selama tiga menit. Preparat selanjutnya direhidrasi menggunakan etanol bertingkat, etanol 100%, etanol 95%, dan etanol 70%, dengan rentang waktu masing – masing selama dua menit, dua menit, dan satu menit. Proses rehidrasi diakhiri dengan menggunakan air selama satu menit. Metode kemudian dilanjutkan dengan proses perendaman dalam *peroxidase blocking solution* selama sepuluh menit pada suhu ruang dan inkubasi dalam *prediluted blocking serum* selama sepuluh menit pada

suhu 25°C. Perendaman dalam antibodi anti oviductin dilakukan selama sepuluh menit pada suhu 25°C dan selanjutnya dicuci menggunakan PBS selama lima menit. Inkubasi kembali dilakukan dengan penambahan peroksidase pada suhu 25°C selama sepuluh menit serta kemudian kembali dicuci menggunakan PBS selama lima menit. Proses inkubasi terakhir adalah dengan penambahan kromogen *Diaminobenzidine* (DAB) pada suhu 25°C dan *Hematoxylin Eosin* masing – masing dengan rentang waktu sepuluh menit serta tiga menit. Preparat kemudian dicuci menggunakan air mengalir lalu dibersihkan dan ditetesi *mounting media*. Langkah terakhir yang dilakukan adalah dengan menutup preparat menggunakan *coverslip* kemudian mengamati ekspresi OVGP menggunakan mikroskop cahaya pada perbesaran 1000x (Winata, 2013).

4.4.3 Pembuatan Preparat Histologi Ovarium

Pembuatan preparat histologi ovarium diawali dengan proses perendaman organ dalam larutan formalin 10% selama ± 22 jam. Setelah proses fiksasi, selanjutnya dilakukan tahapan dehidrasi dengan cara merendam organ pada alkohol bertingkat. Perendaman diawali pada etanol 70% selama kurang lebih 24 jam, etanol 80% 2 jam, etanol 90% 20 menit, dan etanol 95% 25 menit. Tahapan terakhir dari proses dehidrasi yaitu perendaman organ dalam *etanol absolute* selama 3x30 menit.

Clearing merupakan proses penjernihan organ. Tahapan ini dilakukan dengan cara merendam organ di dalam larutan xylol sebanyak dua kali. Suhu optimal clearing adalah $60 - 63^{\circ}\text{C}$. Tahapan pembuatan preparat histologi kemudian dilanjutkan dengan proses embedding dengan cara menuangkan parafin cair pada organ yang ditempatkan pada cetakan dan ditunggu hingga parafin memadat. Dengan demikian organ akan berada dalam blok parafin.

Organ dalam blok parafin selanjutnya dipotong tipis menggunakan mikrotom dan posisinya diatur agar sejajar dengan posisi pisau. Setelah dipotong, diperlukan proses trimming agar potongan preparat tidak berkerut. Potongan organ kemudian dikeringkan pada suhu $38 - 40^{\circ}\text{C}$ dan disimpan dalam inkubator (Spitalnik, 2016).

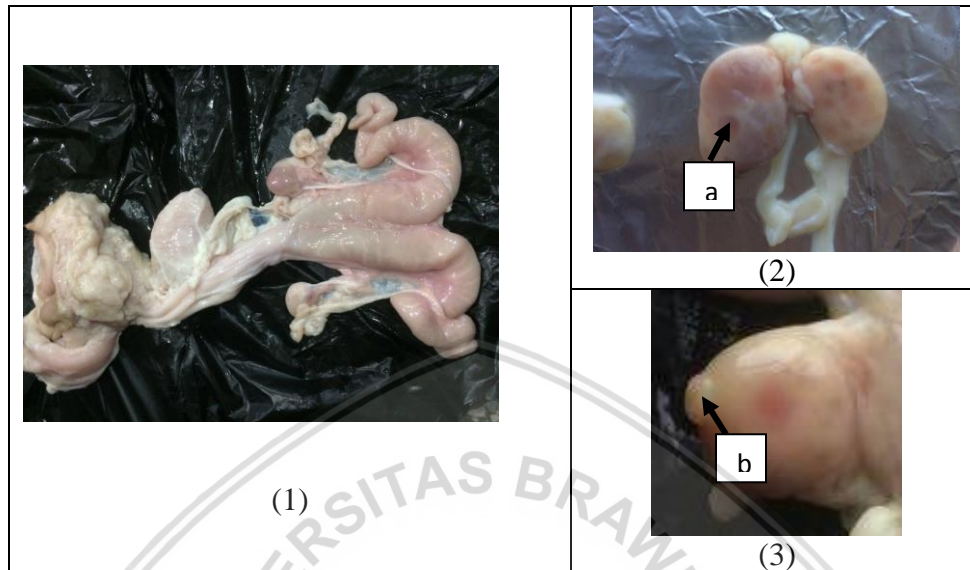
4.5 Analisa Data

Analisa ekspresi oviductin menggunakan teknik imunohistokimia pada kambing dilakukan menggunakan uji T independen. Uji T independen merupakan suatu prosedur pengujian untuk sampel bebas dengan membandingkan rata – rata dua kelompok kasus. Pengujian hipotesis menggunakan distribusi T adalah suatu metode pengujian hipotesa dengan menggunakan distribusi T sebagai uji statistik. Jika hasil perhitungan menggunakan uji T lebih besar dari nilai T tabel maka hipotesa diterima.

BAB 5 HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses penelitian profil ekspresi oviductin dan perhitungan jumlah folikel ovarium fase folikuler dan luteal diawali dengan koleksi sampel organ reproduksi kambing yang diperoleh dari RPH Sukun, Malang. Sampel tersebut selanjutnya dibawa ke laboratorium reproduksi dan kebidanan FKH UB menggunakan *cool box* yang dilengkapi *ice gel* serta diberi NaCl fisiologis untuk kemudian dilakukan preparasi. Penambahan *ice gel* bertujuan untuk memperlambat proses kematian sel serta menekan pertumbuhan bakteri sehingga sampel organ tidak mengalami pembusukan. Sementara itu pemberian NaCl fisiologis berfungsi untuk memberikan kondisi yang sama dengan kondisi tubuh.

Sampel organ reproduksi kambing dikelompokkan berdasarkan fase ovarium yang terlihat yaitu fase folikuler dan fase luteal (Gambar 5.1). Pengelompokan dilakukan berdasarkan pengamatan secara makroskopis pada ovarium. Kelompok sampel fase folikuler dianalisa berdasarkan adanya folikel *Degraaf* yang terlihat pada permukaan ovarium sedangkan sampel fase luteal diidentifikasi dari adanya korpus luteum yang nampak. Sampel yang dikoleksi adalah sebanyak 8 pasang organ ovarium pada tiap fase. Dengan demikian koleksi sampel organ yang dilakukan adalah 8 set organ ovarium kanan dan kiri yang berada pada fase folikuler serta 8 set organ ovarium kanan dan kiri pada fase luteal.



Gambar 5.1 (1) satu set organ reproduksi betina dari RPH
(2) ovarium fase folikuler, (a) folikel ovarium
(3) ovarium fase luteal, (b) korpus luteum (Dokumentasi Pribadi, 2017).

Analisa ekspresi oviductin dilakukan menggunakan metode imunohistokimia. Reaksi yang terjadi antara ikatan antigen anti oviductin dan antibodi oviductin selanjutnya akan diidentifikasi oleh kromagen DAB. Reaksi kromagen DAB dan oksigen akan menghasilkan warna coklat pada preparat yang diamati. Tingkat ekspresi oviductin pada preparat didasarkan pada banyaknya warna coklat yang terbentuk. Presentase ekspresi oviductin dapat dihitung secara kuantitatif menggunakan *software immunoratio*. Perhitungan dilakukan dengan mengamati di lima sudut pandang pada tiap preparat histologi ovarium fase folikuler dan luteal.

5.1 Ekspresi Oviductin pada Ovarium Fase Folikuler dan Luteal

Ovarium merupakan organ reproduksi primer pada hewan betina dengan peranan eksokrin dan endokrin. Dalam peranannya sebagai organ eksokrin, ovarium memiliki tanggung jawab untuk menghasilkan ovum sebagai sel gamet pada hewan betina. Sedangkan sebagai organ endokrin, ovarium berperan untuk menghasilkan hormon reproduksi yang membantu proses reproduksi serta keberhasilan fertilisasi.

Ovarium memiliki banyak folikel yang terus mengalami perkembangan setelah hewan memasuki fase pubertas. Folikel pada ovarium dikelompokkan menjadi folikel primordial, folikel primer, sekunder, tersier, dan folikel *Degraaf*. Kelompok folikel tersebut dibedakan berdasarkan tebal lapisan granulosa, jenis sel epitel yang melingkupi, besar folikel, serta keberadaan antrum.

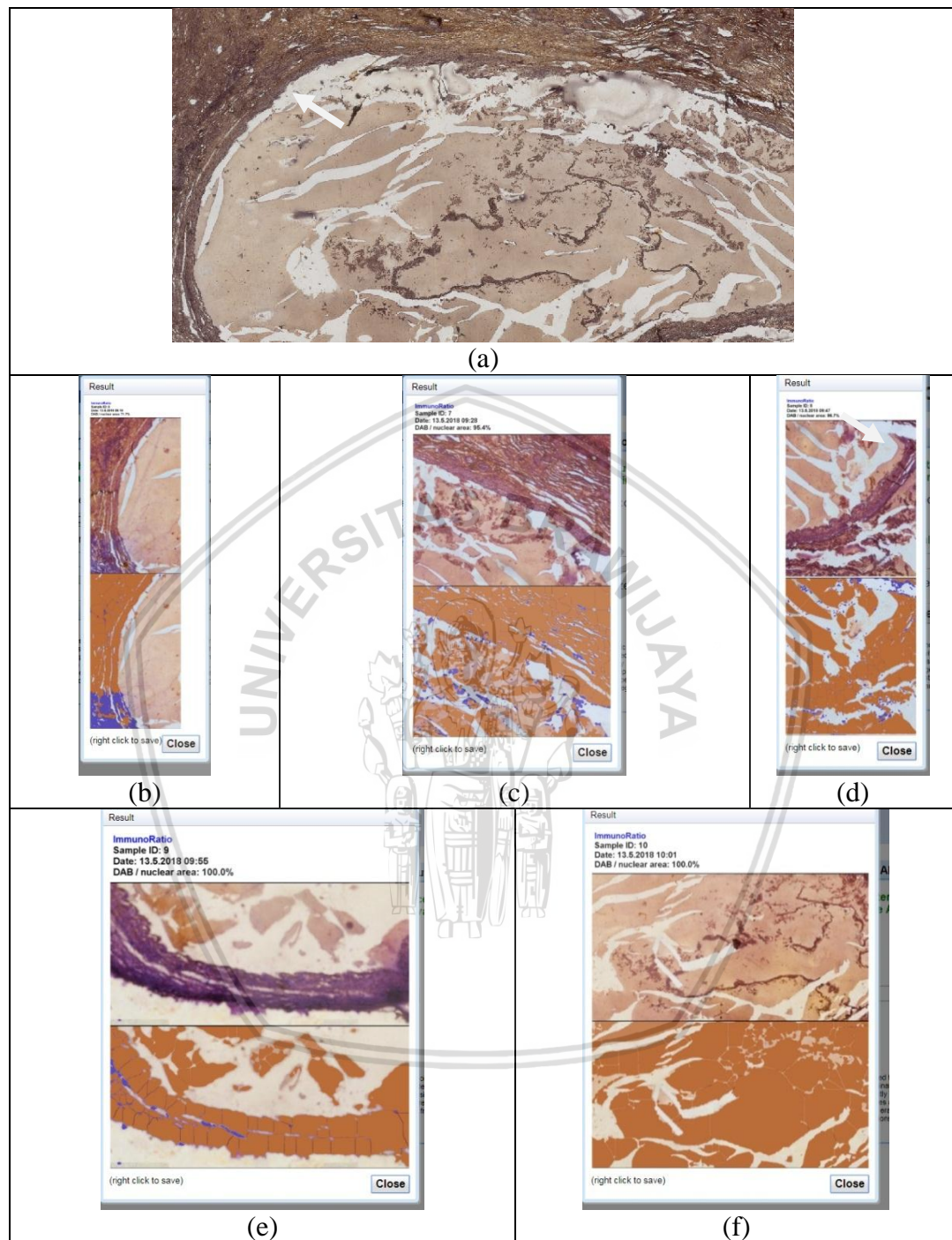
Perkembangan folikel pada ovarium khususnya terjadi pada fase folikuler ovarium dimana hormon FSH, LH, dan estrogen disekresikan dalam jumlah tinggi. Hormon FSH, LH, dan estrogen berfungsi untuk membantu perkembangan dan pematangan folikel ovarium melalui mekanisme stimulasi sintesa protein. Kerja hormon tersebut saling berkaitan dan berhubungan satu sama lain sehingga terbentuk siklus birahi yang normal dan terjadi pematangan folikel (Hermadi, 2015).

Fase luteal ditandai dengan adanya korpus luteum yang teramati pada bagian permukaan ovarium. Korpus luteum merupakan organ endokrin sementara yang berfungsi untuk regulasi sintesis hormon progesteron pada masa kebuntingan

(Oon dan Johnson, 2000). Pada fase ini progesteron dan estrogen bekerja sama dalam proses diferensiasi sel endometrium untuk mempersiapkan terjadinya implantasi embrio (Tamm *et al.*, 2012).

Ekspresi oviductin pada fase folikuler diukur menggunakan lima sudut pandang, empat sudut pandang pada bagian tepi sel granulosa dan satu sudut pandang pada bagian tengah folikel *Degraaf* (Gambar 5.2, 5.3). Pada fase luteal, ekspresi oviductin dianalisa pada bagian sel granulosa lutein menggunakan lima sudut pandang, empat di bagian tepi dan satu di bagian tengah korpus luteum (Gambar 5.4, Gambar 5.5). Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Laheri *et al.* (2017) yang menyatakan bahwa transkrip oviductin pada ovarium terlokalisir pada permukaan sel epitel dan sel granulosa sedangkan pada fase luteal oviductin diekspresikan oleh korpus luteum.

Li *et al.*, (2011) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa penurunan ekspresi oviductin teramati pada hewan coba dengan perlakuan penghilangan reseptor TGF β 1. Hal ini mengindikasikan bahwa TGF β 1 bertindak sebagai ligand maupun reseptor dari oviductin, terutama pada saluran reproduksi betina. Isoform dari TGF β diketahui dapat terdeteksi pada bagian sel theca serta sel granulosa ovarium dan terlokalisasi selama fase folikulogenesis (Ingman dan Robertson, 2002). Hal inilah yang mendasari penilaian ekspresi oviductin dilakukan di bagian sel granulosa folikel *Degraaf* dan korpus luteum.

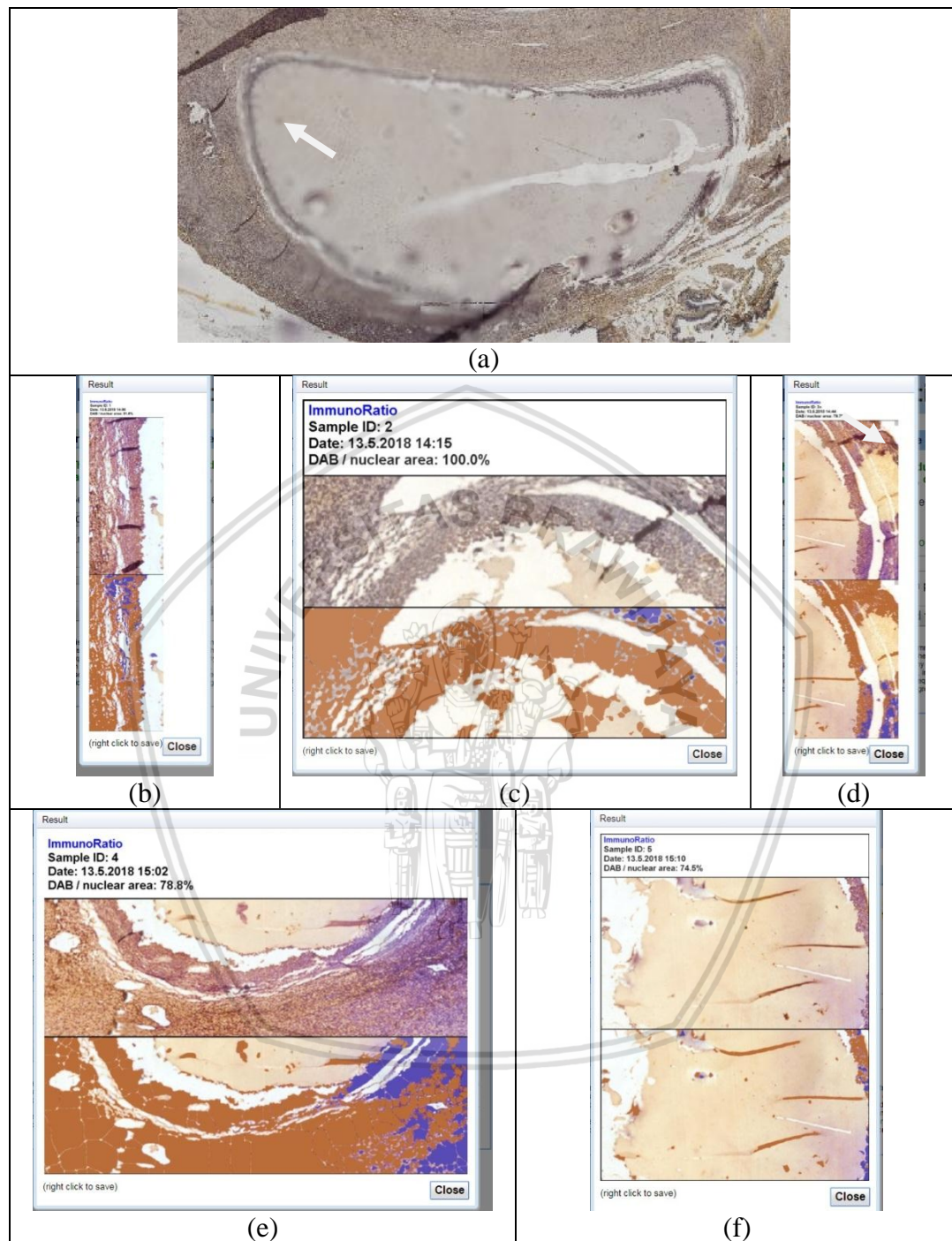


Gambar 5.2 Ekspresi oviductin pada korpus folikel *Degraaf*

(a) folikel *Degraaf* pada ovarium kiri

(b), (c), (d), (e), (f) hasil *immunoratio* ekspresi oviductin menggunakan lima lapang pandang pada folikel *Degraaf* ovarium kiri

Pembesaran 400x; mikroskop Novel X5Z-107T; camera OptiLab 3.0., pewarnaan immunohistokimia.

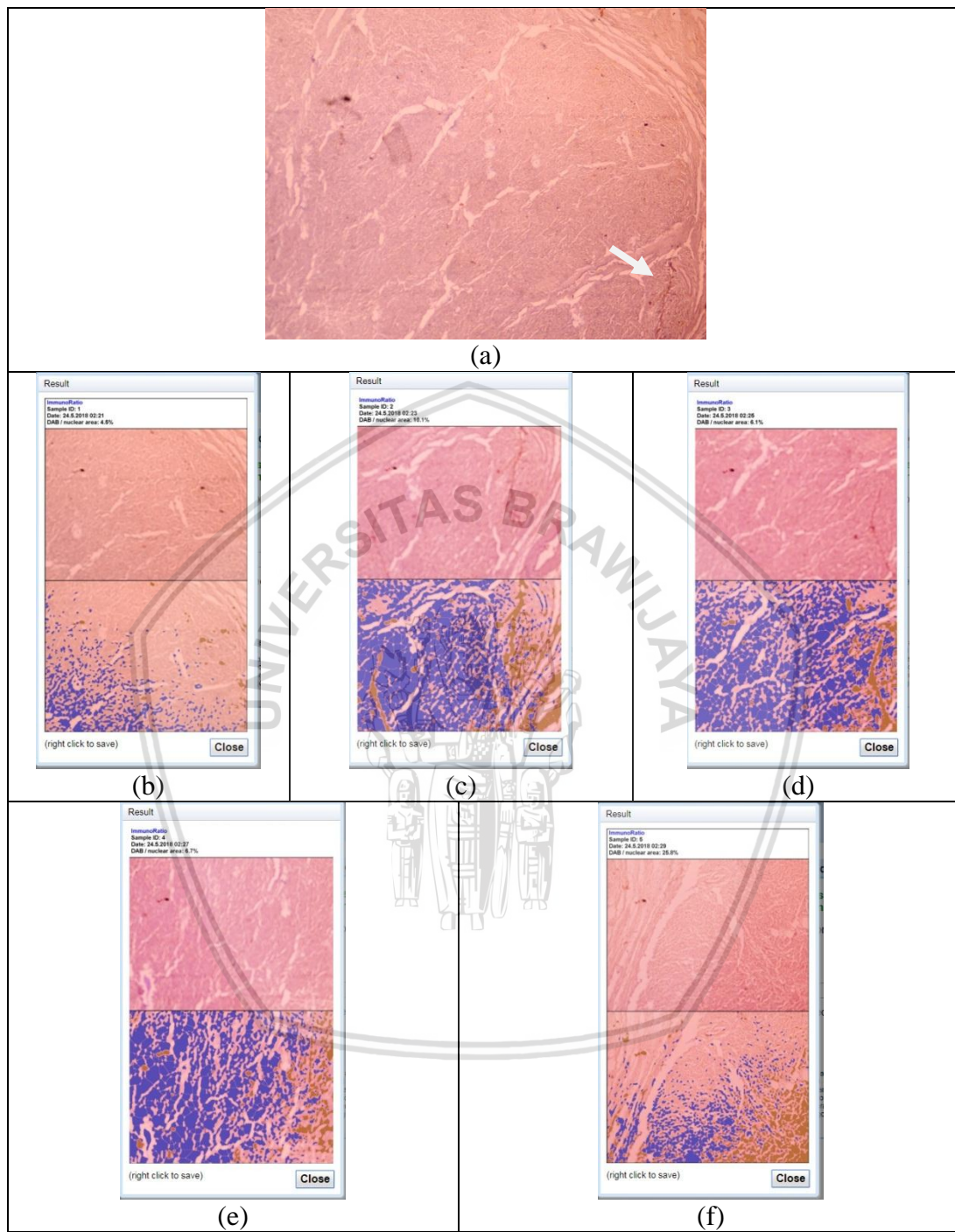


Gambar 5.3 Ekspresi oviductin pada korpus folikel *Degraaf*

(a) folikel *Degraaf* pada ovarium kiri

(b), (c), (d), (e), (f) hasil *immunoratio* ekspresi oviductin menggunakan lima lapang pandang pada folikel *Degraaf* ovarium kiri

Pembesaran 400x; mikroskop Novel X5Z-107T; camera OptiLab 3.0., pewarnaan immunohistokimia.

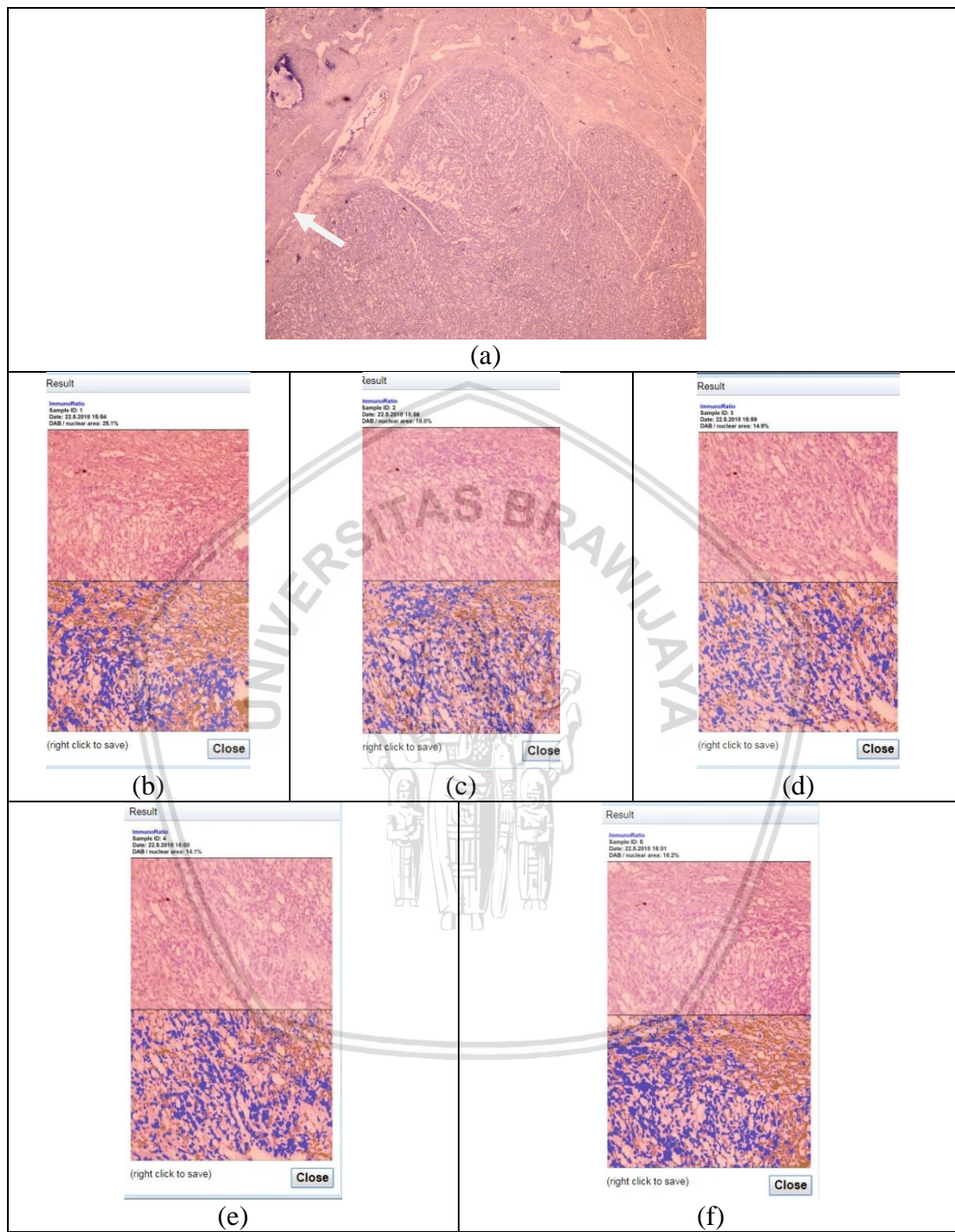


Gambar 5.4 Ekspresi oviductin pada korpus luteum ovarium

(a) korpus luteum pada ovarium kanan

(b), (c), (d), (e), (f) hasil *immunoratio* ekspresi oviductin menggunakan lima lapang pandang pada korpus luteum ovarium kanan

Pembesaran 400x; mikroskop Novel X5Z-107T; camera OptiLab 3.0., pewarnaan immunohistokimia.



Gambar 5.5 Ekspresi oviductin pada korpus luteum ovarium

(a) korpus luteum pada ovarium kiri

(b), (c), (d), (e), (f) hasil *immunoratio* ekspresi oviductin menggunakan lime lapang pandang pada korpus luteum ovarium kanan

Pembesaran 400x; mikroskop Novel X5Z-107T; camera OptiLab 3.0., pewarnaan immunohistokimia.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan diketahui bahwa oviductin diekspresikan pada kedua fase ovarium. Hal ini terlihat dari adanya warna coklat pada folikel *Degraaf* serta korpus luteum. Besar ekspresi tersebut selanjutnya diukur secara kuantitatif menggunakan *software immunoratio* kemudian diukur rata – rata ekspresi protein pada tiap fase (Tabel 5.1, Tabel 5.2). Rata – rata pengukuran terhadap besar ekspresi oviductin menunjukkan adanya perbedaan. Rata – rata ekspresi oviductin pada fase folikuler adalah sebesar 89% sedangkan pada fase luteal adalah sebesar 12%. Terdapat perbedaan yang besar dalam ekspresi oviductin di kedua fase ovarium. Rata - rata ekspresi protein diketahui lebih tinggi sebesar 77% pada fase folikuler dibandingkan dengan fase luteal. Perbedaan tinggi ekspresi protein pada kedua fase tersebut berkaitan dengan sifat *estrogen-dependent* protein oviductin. Hasil penelitian yang telah disebutkan sesuai dengan pendapat Laheri *et al.*, (2017) yang menyatakan bahwa imunoreaktivitas oviductin lebih tinggi pada fase estrus dibandingkan dengan fase diestrus.

Tabel 5.1 Tabel Hasil Ekspresi Oviductin Ovarium Fase Folikuler

Kode Preparat	Tingkat Ekspresi Oviductin Ovarium Fase Folikuler		Rata – Rata Ekspresi Ovarium Kanan Kiri
	Ovarium Kanan	Ovarium Kiri	
1	92,26%	92,68%	92,47%
2	62,96%	90,56%	76,76%
3	92,54%	92,76%	92,65%
4	86,64%	89,7%	88,17%
5	96,1%	82,3%	89,2%
6	86,1%	95,64%	90,87%
7	94,98%	96,44%	95,71%
8	86,5%	88,28%	87,39%
Rata – rata	87,26%	91%	
Total rata – rata	89,13%		

Tabel 5.2 Tabel Hasil Ekspresi Oviductin Ovarium Fase Luteal

Kode Preparat	Tingkat Ekspresi Oviductin Ovarium Fase Luteal		Rata – Rata Ekspresi Ovarium Kanan Kiri
	Ovarium Kanan	Ovarium Kiri	
1	17,5%	11,88%	14,69%
2	18,06%	7,66%	12,86%
3	14,46%	9,34%	11,9%
4	16,9%	14,84%	15,87%
5	12,62%	15,9%	14,26%
6	10,64%	10,78%	10,71%
7	6,14%	6,82%	4,98%
8	11,2%	5,32%	8,26%
Rata – rata	13,44%	10,32%	
Total rata – rata	11,88%		

Hormon estrogen disekresikan pada fase folikuler ovarium untuk membantu proses pematangan folikel. Ekspresi hormon ini mencapai fase puncak pada akhir fase folikuler untuk stimulasi terjadinya ovulasi. Setelah ovulasi, ekspresi hormon estrogen tetap dipertahankan namun dengan kadar yang lebih rendah untuk mempersiapkan uterus terhadap adanya implantasi jika terjadi fertilisasi.

Selain itu, pada fase folikuler, folikel berkembang dengan pesat. Dalam perkembangannya, folikel pada ovarium akan membentuk antrum yang berisi *liquor folikuli*. Cairan tersebut menurut Hermadi (2015) mengandung estrogen yang berfungsi untuk meningkatkan sensitivitas reseptor sel granulosa terhadap LH.

Oviductin merupakan salah satu protein yang teridentifikasi memiliki *Estrogen Responsive Elements* (EREs) dengan afinitas yang tinggi (Deschenes *et al.*, 2004). Sekresi hormon estrogen yang tinggi selama fase folikuler mengakibatkan terjadinya interaksi antara reseptor estrogen (ER) dengan *estrogen responsive elements*. Domain pengikat DNA sentral bertanggung jawab untuk pengenalan sekuensi primer dan ikatan kooperatif oleh reseptor dimer pada pasangannya. Ligan mengikat domain mengandung permukaan dimerisasi kuat yang menstabilkan reseptor homodimeter atau heterodimer dan meningkatkan ikatan terhadap pasangan reseptor dimer. Selanjutnya *estrogen responsive elements* pada oviductin akan dikenali oleh reseptor estrogen dengan afinitas tinggi sehingga menghasilkan serangkaian perintah kompleks coactivator yang mengarah pada asetilasi histone, remodeling kromatin, dan peningkatan transkripsi (Marino *et al.*, 2006). Dengan demikian, tingginya ekspresi oviductin pada fase folikuler berkaitan dengan adanya ekspresi hormon estrogen dan menurut Buhi (2002) sintesis protein ini dilakukan dalam jumlah besar, terutama pada fase pertengahan hingga akhir fase folikuler. Hal inilah yang menyebabkan kadar ekspresi oviductin yang terukur lebih besar pada fase folikuler dibandingkan pada fase luteal.

Hipotesa terhadap hasil uji juga dianalisa secara statistika menggunakan uji T independent dengan hipotesa hasil berupa ekspresi oviductin lebih tinggi pada fase folikuler dibandingkan fase luteal. Uji ini bertujuan untuk mengetahui apakah hipotesa yang diajukan dapat diterima atau ditolak. Hasil analisa menggunakan uji T menunjukkan bahwa T hitung lebih tinggi dari nilai T tabel. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa hipotesa yang menyatakan ekspresi oviductin pada ovarium fase folikuler lebih tinggi dari fase luteal dapat diterima.

5.2 Perhitungan Jumlah Folikel Ovarium Fase Folikuler dan Luteal

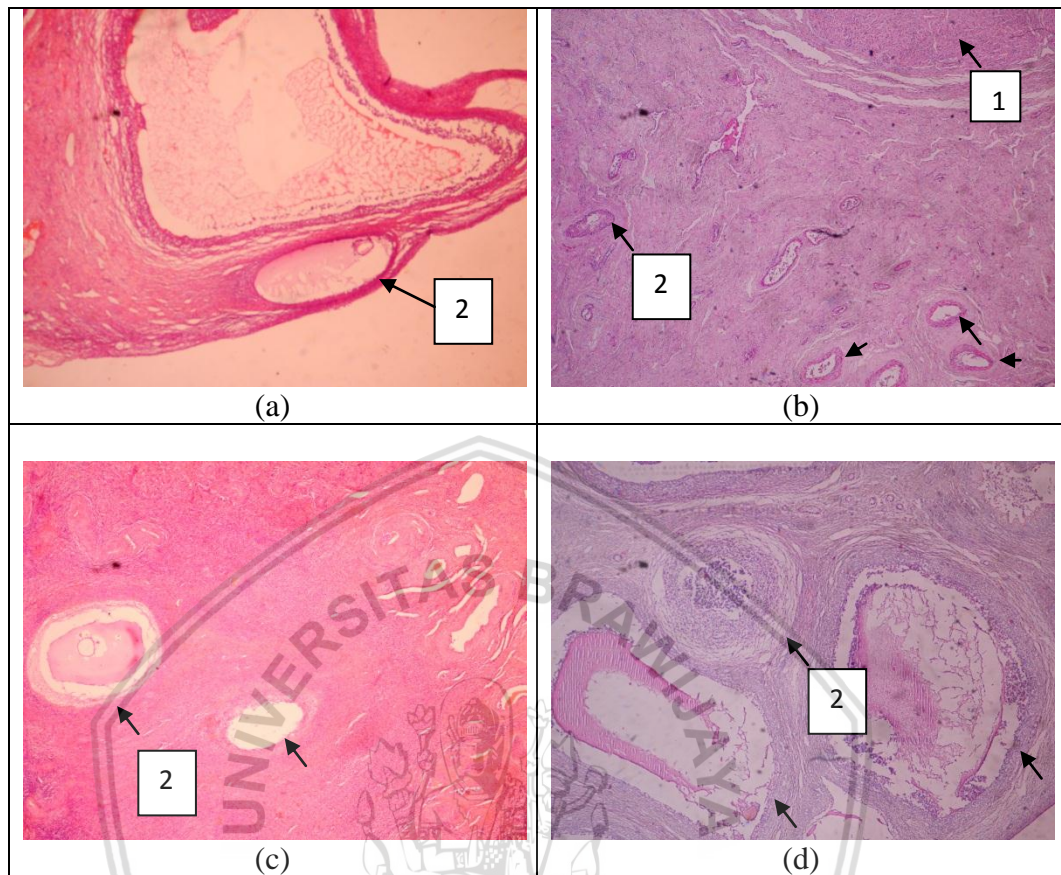
Ovarium merupakan organ tempat folikel mengalami perkembangan. Folikel di ovarium (Gambar 5.6) terdapat pada bagian korteks. Folikel – folikel tersebut terus mengalami perubahan selama fase pertumbuhan hewan, baik berkembang maupun atresi. Adanya kejadian itu membuat jumlah folikel pada ovarium mengalami penurunan.

Perkembangan folikel pada ovarium dibantu oleh kerja beberapa hormon diantaranya FSH, LH, dan estrogen. Hormon estrogen disekresikan baik pada fase folikuler maupun pada fase luteal. Pada fase folikuler, hormon estrogen dihasilkan dalam jumlah besar untuk meningkatkan fungsi FSH. Hormon ini banyak terkandung dalam liquor folikuli pada folikel tersier dan folikel *Degraaf* (Hermadi, 2015). Sedangkan pada awal fase luteal, hormon estrogen disekresikan oleh corpus luteum.

Folikel primer pada ovarium ditandai dengan ukuran folikel yang kecil dan lapisan sel granulosa yang terdiri dari satu lapis. Folikel ini merupakan hasil perkembangan dari folikel primordial yang terbentuk sejak hewan dilahirkan. Perbedaan antara folikel primordial dan folikel primer terletak pada sel granulosa berbentuk pipih yang perlahan berkembang menjadi berbentuk kubus pada folikel primer.

Folikel sekunder atau folikel preantral ditandai dengan jumlah lapisan sel granulosa yang meningkat dan mulai terbentuk antrum berisi liquor folikuli. Antrum pada folikel sekunder tampak berukuran kecil dan ukuran oosit mengalami peningkatan.

Folikel tersier atau folikel antral memiliki ciri berupa adanya cumulus oophorus yang mengelilingi oosit serta ukuran antrum yang besar (Kuehnel, 2003). Oosit primer yang terletak pada salah satu sisi folikel akan dikelilingi oleh kumulus oophorus dan mulai terbentuk korona radiata. Liquor folikuli yang berada dalam antrum folikel mengandung estrogen yang diperlukan untuk membantu proses perkembangan folikel.



Gambar 5.6 Folikel pada ovarium

- (a) ovarium kanan fase luteal
- (1) korpus luteum
- (2) folikel ovarium
- (b) ovarium kiri fase luteal
- (2) folikel ovarium
- (c) ovarium kanan fase folikuler
- (2) folikel ovarium
- (d) ovarium kiri fase folikuler
- (2) folikel ovarium

Perbesaran 40x; mikroskop Novel X5Z- 107T; camera OptiLab 3.0., pewarnaan HE.

Perubahan yang terjadi selama masa pertumbuhan hewan serta kondisi hormonal akan mempengaruhi jumlah folikel pada ovarium (Tabel 5.3, Tabel 5.4). Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, pada fase folikuler rata – rata jumlah folikel yang dihitung adalah sebanyak 16 buah dan pada fase luteal

adalah 8 buah. Dengan demikian rata – rata jumlah folikel yang diamati lebih banyak sebesar 8 buah pada fase folikuler dibandingkan dengan fase luteal.

Tabel 5.3 Perhitungan jumlah folikel ovarium fase folikuler.

Kode Preparat	Jumlah Folikel		Rata – Rata Folikel Ovarium Kanan Kiri
	Ovarium Kanan	Ovarium Kiri	
1	18	18	18
2	19	11	15
3	18	13	15,5
4	15	8	11,5
5	13	20	16,5
6	36	22	29
7	6	6	6
8	17	14	15,5
Rata – rata	17,7	14	
Jumlah rata - rata	15,8		

Tabel 5.4 Perhitungan jumlah folikel ovarium fase luteal.

Kode Preparat	Jumlah Folikel		Rata – Rata Folikel Ovarium Kanan Kiri
	Ovarium Kanan	Ovarium Kiri	
1	3	4	3,5
2	12	11	11,5
3	17	15	16,5
4	3	3	3
5	6	6	6
6	8	7	7,5
7	10	8	9
8	8	8	8
Rata – rata	8,4	7,7	
Jumlah rata - rata	8		

Perbedaan rata – rata jumlah folikel yang teramati disebabkan oleh banyak faktor diantaranya adalah siklus hormonal ovarium. Pada fase folikuler, hormon yang memacu perkembangan dan pematangan folikel bekerja secara aktif. Sedangkan pada fase luteal hormon yang disekresikan pada saluran reproduksi

difokuskan untuk diferensiasi sel endometrium terhadap adanya kemungkinan implantasi embrio. Perbedaan kondisi hormonal ini memungkinkan terjadinya perkembangan serta atresi folikel ovarium yang berdampak pada perbedaan rata – rata jumlah folikel yang teramati pada kedua fase.

Hormon estrogen yang disekresikan pada fase folikuler dan luteal ovarium mempengaruhi proses sintesis mRNA oviductin. Secara umum, oviductin memiliki peranan penting bagi keberhasilan fertilisasi melalui kontrol polispermi, perkembangan awal embrio dengan menyediakan lingkungan yang memadai bagi embrio, folikulogenesis, serta maturasi sel oosit. Adanya ekspresi protein ini pada kedua fase ovarium menunjukkan adanya peranan penting protein baik pada fase pre-ovulasi maupun post-ovulasi.

Pada fase folikuler, antrum folikel akan diisi oleh liquor folikuli. Liquor folikuli (cairan folikel) tersebut mengandung banyak estrogen untuk meningkatkan fungsi FSH (Hermadi, 2015). Peningkatan fungsi FSH tersebut berdampak pada aktivitas mitosis sel granulosa folikel sehingga folikel pada ovarium mengalami perkembangan. Dengan demikian, sintesis mRNA oviductin turut meningkat pada fase ini.

Pada fase luteal, ekspresi estrogen dipertahankan secara sekunder disamping progesteron. Ekspresi estrogen pada fase ini difokuskan untuk membantu progesteron dalam diferensiasi sel endometrium. Adanya ekspresi estrogen pada fase luteal juga memicu sintesa protein oviductin. Oviductin yang diekspresikan pada fase luteal ovarium diketahui berperan penting untuk

membantu pembelahan sel embrio serta pembentukan blastosit (McCauley *et al.*, 2003).

Hermadi (2015) menyatakan bahwa peran hormon FSH dalam merangsang pertumbuhan dan pematangan folikel adalah melalui stimulasi sintesa protein. Dalam penjelasannya, Hernadi (2015) tidak menyebutkan secara spesifik jenis protein yang membantu proses tersebut. Namun demikian, protein yang disintesis dalam jumlah besar terutama pada fase pertengahan hingga akhir siklus folikuler adalah oviductin. Ingman dan Robertson (2002) juga menyebutkan bahwa TGF β sebagai ligand maupun reseptor dari oviductin diyakini dapat meningkatkan efek FSH seperti induksi aromatase sel granulosa dan menginisiasi sintesis DNA pada folikel. Selain itu TGF β dilaporkan turut membantu pematangan oosit serta proses perkembangan folikel ovarium.

Berdasarkan penjelasan di atas, ekspresi oviductin yang lebih tinggi pada fase folikuler diduga berhubungan dengan peranannya yang lebih dominan dalam proses folikulogenesis dimana estrogen juga diekspresikan dalam jumlah besar. Hal tersebut didukung dengan data jumlah folikel yang lebih banyak teramati pada fase folikuler dibandingkan pada fase luteal.

BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

1. Oviductin diekspresikan oleh ovarium pada fase folikuler dan luteal.
Terdapat perbedaan ekspresi oviductin, dimana ekspresi tersebut lebih tinggi pada fase folikuler dibandingkan dengan fase luteal.
2. Terdapat perbedaan jumlah folikel ovarium fase folikuler dan fase luteal.
Pada fase folikuler, jumlah folikel di ovarium terhitung lebih banyak dibandingkan pada fase luteal.

6.2 Saran

Diperlukan adanya penelitian lanjutan untuk mengetahui peranan oviductin secara spesifik terhadap tiap fase folikulogenesis.

DAFTAR PUSTAKA

- Aladdin. 2008. *Hematoxylin & Eosin Staining Protocol*. [cited 2018 March. 13]. Available from: URL: http://www.aladdin-e.com/up_files/docs/Hematoxylin%20&%20Eosin%20Staining%20Protocol.pdf.
- Anwar, R. 2005. Morfologi dan Fungsi Ovarium. *Jurnal Obstetri dan Ginekologi*: 2 – 20.
- Arman, C. 2014. *Reproduksi Ternak*. Gaha Ilmu. Mataram.
- Biotechne. 2017. *Immunohistochemistry (IHC) Handbook*. Biotechne Distributor. Beijing.
- Buhi, W. C. 2002. Characterization and Biological Roles of Oviduct-Specific, Oestrogen-Dependent Glycoprotein. *Journal of Reproduction* 123, 355–362 : 1 – 8.
- Cancer Chemoprevention Research Centre (CRCC). 2009. Prosedur tetap Pengamatan Ekspresi Protein dengan Metode Imunohistokimia (serial online), [cited 2018 January. 1]. Available from: URL: <http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/wpcontent/uploads/2009/02/03012-imunositokimia.pdf>.
- Coy, P., C. S., M. I., Saavedra, R. R., G. L., M. C., A. M. 2008. Oviduct-Specific Glycoprotein and Heparin Modulate Sperm-Zona Pellucida Interaction During Fertilization and Contribute to the Control of Polyspermy. *Journal Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008 Oct 14 : 1.
- Coy, P. dan M. Aviles. 2010. What Controls Polyspermy in Mammals, the Oviduct Or the Oocyte?. *Journal Biol. Rev.* (2010), 85, (pp. 593–605): 2 – 4.
- Deschenes, J., F. Gannon, N. Bretschneider, S. Mader. 2004. Genome-Wide Identification of High-Affinity Estrogen Response Elements in Human and Mouse. *Journal of Molecular Endocrinology* 2004 March 4: 1
- Gomes, T. J. D. S. 2008. Equine Corpus Luteum Vascular Evaluation by Power-Doppler Ultrasound. [Skripsi]. Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade Técnica De Lisboa.
- Hermadi, H. A. 2015. Pemberantasan Kasus Kemajiran pada Ternak Menuju Kemandirian di Bidang Kesehatan Reproduksi Hewan dan Ketahanan Pangan di Indonesia. [Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.

- Ingman, W., V., dan Robertson, A., S. 2002. *Defining The Action of Transforming Growth Factor Beta in Reproductin*. Australia : University of Adelaide.
- Khoiriyah, T. 2008. Pengaruh Penambahan Leptin dalam Medium Maturasi terhadap Tingkat Pematangan Oosit Kambing Induk Peranakan Etawah (PE) secara in Vitro. [Skripsi]. Fakultas Peternakan. Universitas Brawijaya.
- Kuehnel, W. 2003. *Color Atlas of Cytology, Histology, and Microscopic Anatomy*. Thieme Stuttgart. Luebeck.
- Kusriningum. 2008. Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap. Surabaya: Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Krause, W. J. 2005. *Krause's Essential Human Histology for Medical Student*. Universal Publisher. Florida.
- Leppert, P. C. dan J. F. Peipert. 2004. *Primary Care for Women*. Lippincott Williams & Wilkins. London.
- Li, Q., Agno, J., E., Edson, M., A., Nagaraja, A., K., Nagashima, T., Matzuk, M., M. 2011. *Transforming Growth factor β Receptor Type 1 Is essential for Female Reproductive Tract Integrity and Function*. Texas : United States of America.
- M., H. A., El-Gendy, A. A. M, Nagy, A. M., Elkhadrawy, H. H., Zaki, M. S., Ali, A. H. 2014. Extraction and Purification of Buffalo Pituitary FSH (buFSH) with Emphasis on Its Biological Activity and Histological Changes in Ovaries of Mice. *Life Science Journal* 2014;11(10) : 6.
- Marino, M., P. Galluzzo, P. Ascenzi. 2006. Estrogen Signaling Multiple Pathways to Impact Gene Transcription. *Journal of Current Genomics*: 7.
- McCauley, T. C., W.C. Buhi, G.M. Wu, J. Mao, J.N Caamaño, B.A. Didion, and B.N. Day. 2003. Oviduct-Specific Glycoprotein Modulates Sperm-Zona Binding and Improves Efficiency of Porcine Fertilization In Vitro. *Journal Biology of Reproduction* 69, 828–834 (2003) : 1.
- Mescher, A. 2013. *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas, Thirteenth Edition*. McGraw Hill Professional. Indiana.
- N., V. H., V. N. L., N. S. H. 2016. Successful In Vitro Maturation of Oocytes Collected from Whole Porcine Ovaries Vitrifcation. *Electronic Journal of Biology*: 2 – 5.
- Nurmiati. 2014. Pengaruh Jenis Kelamin Terhadap Pertumbuhan Kambing Kacang yang Dipelihara Secara Intensif. [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor.

- Oon, V. J. H. dan Johnson, M. R. 2000. The Regulation of the Human Corpus Luteum Steroidogenesis: A Hypothesis?. *Human reproduction Update Vol.* 6: 1 – 3.
- Pratiwi, H., A. Firmawati, Herawati, N. Isnaini. 2017. Isolation and Profilling Oviduct Specifict Glycoprotein in Oviductal Fluid of Goat Kacang (*Capra aegagus hircus*). *Journal of Environmental Engineering & Sustainable Technology* : 1 – 2.
- Reed, B. G., dan B. R. Carr. 2015. *The Normal Menstrual Cycle and the Control of Ovulation*, [cited 2018 February. 20]. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279054/>
- Rizos, D., V. Maillo , P. Lonergan. 2016. Role of the Oviduct and Oviduct-Derived Products in Ruminant Embryo Development. *Journal Anim. Reprod.*, (v.13) : 1.
- Rusdi, M. 2013. Analisis Pilihan Masyarakat untuk Beternak Kambing di Desa Lempa Kecamatan Pammana Kabupaten Wajo, [Skripsi]. Universitas Brawijaya.
- Samik, A. dan E. Safitri. 2017. Mycotoxin Binders Potential on Histological of Ovary Mice Exposed by Zearalenone. *Journal of Veterinary World (EISSN: 2231-0916)* : 3 – 5.
- Sarwono, B. 2005. *Beternak Kambing Unggul*. Niaga Swadaya. Jakarta.
- Sudewo, A. A. T., S. A. Santosa dan A. Susanto. 2012. Produktivitas Kambing Peranakan Ettawah Berdasarkan Litter Size, Tipe Kelahiran dan Mortalitas di Village Breeding Centre Kabupaten Banyumas. Prosiding Seminar Nasional ISBN: 978-979-9204-79-0. 2.
- Sulaksono, A., S. Suharyati, P. E. Santosa. 2012. Penampilan Reproduksi (*Service Per Conception*, Lama Kebuntingan, dan Selang Beranak) Kambing Boerawa di Kecamatan Gedong Tataan dan Kecamatan Gisting. *Jurnal Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Lampung, Lampung* – 35145 : 3.
- Sodiq, A. Dan Z. Abidin. 2008. *Meningkatkan Produksi Susu Kambing Peranakan Ettawah*. Agro Media. Jakarta.
- Stalnik, P. F. 2006. *Histology Laboratory Manual*. College of Physicians and Surgeon. Colombia.
- Syamsuddin, R. 2014. Pengaruh Diameter Oosit Sapi Bali terhadap Tingkat Kematangan Inti Oosit secara in Vitro. [M. Sc. Thesis]. Progam Studi Produksi Ternak. Jurusan Produksi Ternak. Fakultas Peternakan. Universitas Hasanuddin.

Tamm, K., M. Suhorutshenko, M. Room, J. Simm, M. Metsis. 2012. *Basic Science*, [cited 2018 June. 29]. Available from: URL: http://cdn.intechopen.com/pdfs/25410/InTech-The_tissue_specific_role_of_estrogen_and_progesterone_in_human_endometrium_and_mammary_gland.pdf

William, C. J. dan G. F. Erickson. 2012. *Morphology and Physiology of the Ovary*, [cited 2018 February. 22]. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278951/>

Winata, I. G. S. 2013. Ekspresi Protein 53 (p53) Tidak Berhubungan dengan Stadium Kanker Ovarium. Denpasar. [M. Sc. Thesis]. Universitas Udayana.

